

Aus dem Institut für Neuropathologie des Klinikums Steglitz
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. med. Cervós-Navarro

NEUROPATHOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN
ZUM
TIEREXPERIMENTELLEN FETALEN
ALKOHOLSYNDROM

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Madeleine-Simone Kastner
aus Berlin

1984

Aus dem Institut für Neuropathologie des Klinikums Steglitz
der Freien Universität Berlin

Direktor: Prof. Dr. med. Cervós-Navarro

**NEUROPATHOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN
ZUM
TIEREXPERIMENTELLEN FETALEN ALKOHOLSYNDROM**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von:

Madeleine-Simone Kastner
aus Berlin

Referent: Prof. Dr. med. Cervós-Navarro

Koreferent: Prof. Dr. med. H.-J. Merker

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 27.11.1984

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	5
1.1 Allgemeine Einleitung	5
1.2 Klinik des fetalen Alkoholsyndroms	8
1.3 Pathogenese des fetalen Alkoholsyndroms	12
1.4 Tierexperimentelle Untersuchungen	15
1.5 Neuroanatomische Ergebnisse der tier- experimentellen Untersuchungen	16
1.6 Tierexperimentelle Problematik	18
2. FRAGESTELLUNG	22
3. NEUROANATOMISCHE GRUNDLAGEN	23
3.1 Differenzierung der Kleinhirnrinde	23
3.2 Entwicklung der Purkinjezellen	28
3.3 Enzymatische Ausreifung der Kleinhirnrinde	29
4. METHODIK UND MATERIAL	30
4.1 Tierexperimenteller Teil	30
4.1.1 Material	30
4.1.2 Versuchsbedingungen	30
4.1.3 Ernährung	31
4.1.4 Versuchsverlauf	31
4.2 Messungen	33
4.3 Histologische Methoden	35
4.3.1 Paraffinschnitte/Celloidinschnitte	35
4.3.2 Gefrierschnitte - Histochemie	35
5. ERGEBNISSE	38
5.1 Entwicklung der Hirn- und Körpergewichte	38
5.2 Ergebnisse der Paraffinschnitte	43
5.3 Ergebnisse der Gefrierschnitte - enzym- histochemische Untersuchungen	69
6. DISKUSSION	88
6.1 Interpretation der Ergebnisse der Paraffin- schnitte	89

6.1.1	Alkohol und Mißbildungen	89
6.1.2	Einfluß des Alkohols auf die Feinstruktur des Gehirns - Verschiedene Applikationsformen des Alkohols	90
6.1.3	Soll Alkohol vor oder nach der Geburt gegeben werden? - Der Einfluß von Alkohol auf die vulnerablen Wachstumsphasen des Gehirns	91
6.1.4	Diskussion der Malnutrition	94
6.1.5	Alkohol und der Mangel an Schilddrüsenhormon	97
6.1.6	Schädigt Alkohol oder sein direktes Abbauprodukt Azetaldehyd die Rattenembryos und -feten?	
6.2	Diskussion der Ergebnisse der enzymhistochemischen Untersuchungen	100
6.3	Schlußbemerkung zur Diskussion	101
7.	ZUSAMMENFASSUNG	103
8.	LITERATUR	104
9.	DANK	112
10.	LEBENS LAUF	113

1. EINLEITUNG

1.1 Allgemeine Einleitung

Seit Jahrhunderten wird vermutet, daß die Nachkommen chronischer Alkoholiker geschädigt sind. Erste Untersuchungen über alkoholgeschädigte Kinder existieren seit Mitte des 19. Jahrhunderts (JONES AND SMITH, 1973), wurden jedoch bis vor circa 15 Jahren in der Pädiatrie nicht beachtet.

1968 veröffentlichte der französische Arzt LEMOINE eine Untersuchung von 127 Kindern alkoholgeschädigter Mütter. Die Kinder zeigten auffällige kraniofasziale Stigmata sowie körperliche und psychomotorische Entwicklungsverzögerung (LEMOINE, 1968). KENNETH JONES und DAVID SMITH machten 1973 den Zusammenhang zwischen mütterlichem Alkoholismus und kindlichen Mißbildungen weltweit bekannt. Sie beschrieben - wie LEMOINE - kraniofasziale Veränderungen und Entwicklungsverzögerungen bei 11 Kindern von Alkoholikerinnen. Für die bei den Kindern beobachteten Veränderungen führten sie den Begriff des "Fetalen Alkoholsyndroms" ein, abgekürzt "FAS" (JONES AND SMITH, 1973).

In Deutschland machten BIERICH und MAJEWSKI aus Tübingen auf alkoholgeschädigte Kinder aufmerksam. Sie hatten 95 Kinder untersucht und den in Deutschland häufiger benutzten Begriff der "Alkoholembryopathie" eingeführt (BIERICH, MAJEWSKI ET AL., 1976).

Alkohol wird heute in den USA und der BRD für die häufigste teratogene Noxe gehalten. Dies ist einerseits dadurch zu erklären, daß die Zahl der weiblichen Trinkerinnen ständig steigt. Andererseits ist das FAS zusehends bekannter geworden, so daß es häufiger diagnostiziert wird und damit auch häufiger in Statistiken erscheint.

In der BRD wurden 1981 1,8 Millionen Alkoholkranke geschätzt, wovon 400.000 Frauen und 180.000 Jugendliche waren (DEUTSCHE STELLE FÜR SUCHTGEFAHREN HAMM, 1981 - s.Tab.1). Der Pro-Kopf-Verbrauch an reinem Alkohol hat sich in den letzten Jahren

verdreifacht und beträgt zur Zeit 13 Liter im Jahr.

Aus diesen Zahlen ergibt sich, daß Alkoholismus zu einem der größten sozial- und gesundheitspolitischen Probleme der Industriestaaten geworden ist.

Da man annehmen muß, daß die Zahl weiblicher Alkoholikerinnen weiter steigt und damit auch die Inzidenz des FAS, erscheinen genaue Untersuchungen zu diesem Syndrom besonders wichtig.

Genaue Zahlen zur Häufigkeit des FAS fehlen noch. Französische Autoren geben eine Häufigkeit von 2-3 % an (SAMAILLE-VILLETTE ET AL., 1976), OLEGARD UND MITARBEITER aus Göteborg stellten eine Inzidenz von 1 zu 300 Geburten fest (OLEGARD ET AL., 1979).

In Westberlin wurden zwischen 1977 und 1979 in einer retrospektiven Studie 70 geschädigte Kinder bekannt (NESTLER, SPOHR, STEINHAUSEN, 1981). Eine umfassende, nationale oder internationale Studie ist bisher nicht erschienen.

ZAHLEN ZUM ALKOHOLISMUS IN DEUTSCHLAND

	Bundesrepublik	Westberlin
Alkoholkrank	1.8 Mill. *	40-60.000 **
Frauen (20%)	400.000	15.000
Jugendliche (10%)	180.000	6.000
weibl. Jugendliche	50.000	1.500

* Dt. Hauptstelle f. Suchtgefahren, Hamm (1981)

** Landesstelle f. Suchtgefahren, Berlin (1982)

Tab. 1

1.2 Klinik des fetalen Alkoholsyndroms (FAS)

Seit der Erstbeschreibung des FAS durch JONES und SMITH 1973 erschienen zahlreiche weitere Arbeiten an größerem Patientengut.

In der Literatur ist ein weites Spektrum verschiedener Symptome beschrieben, die jedoch, für sich allein gewertet, für die Diagnose nicht ausreichen. Sowohl deutlich sichtbare wie diskrete dysmorphe Stigmata sind zu finden. Die leichteren Formen des fetalen Alkoholsyndroms sind häufiger als die schwer ausgeprägten Formen mit allen typischen Zeichen. Diese leichtere Schädigung ist schwer zu diagnostizieren (H.L. SPOHR und G. STOLTENBURG-DIDINGER, 1983), was die von vielen Autoren vermutete hohe Dunkelziffer des Syndroms erklärt.

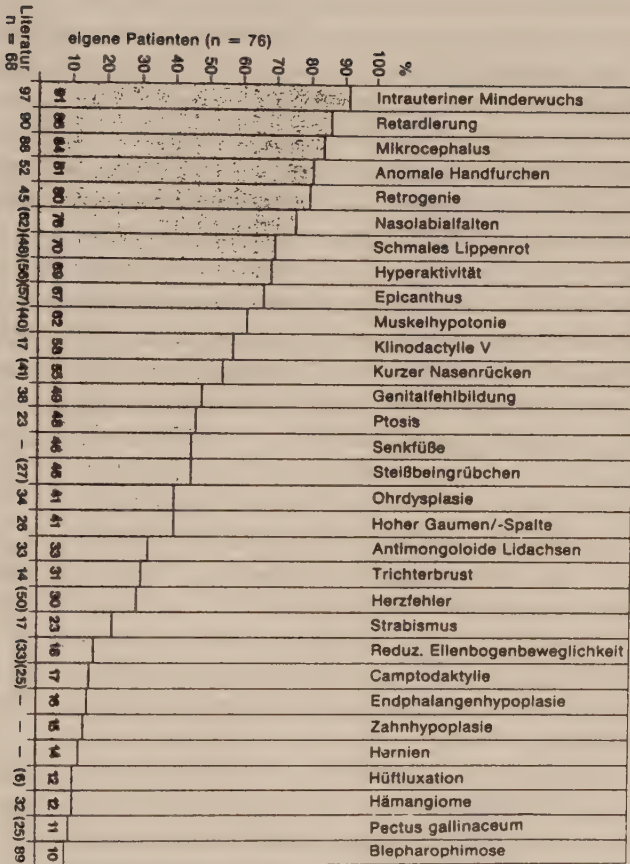
MAJEWSKI versuchte 1978 das FAS zu klassifizieren, indem er 25 Symptome quantitativ nach ihrer klinischen Bedeutung ordnete und in Grad 1-3 (leicht - mittel - schwer) einteilte (MAJEWSKI, 1978). Leichtere Formen des Syndroms können mit dieser Einteilung besser erkannt werden, insgesamt gesehen kann sie jedoch nur einen Anhalt für die Diagnose geben.

In der Literatur werden übereinstimmend folgende Kardinalsymptome für das FAS angegeben.

- PRÄ- UND POSTNATALE WACHSTUMSVERZÖGERUNG
- MENTALE UND STATO-MOTORISCHE RETARDIERUNG
- MICROCEPHALIE
- KRANIOFASZIALE DYSMORPHIE

Zu den fakultativen Symptomen gehören:

- Kardiovaskuläre Anomalien, wobei bei ca. 25 % Herzfehler diagnostiziert wurden
 - Urogenitale Fehlbildung und Skelettanomalien
- (NESTLER UND MITARBEITER, 1981)
(s. Tabelle 2)



Tab. 2: Symptomatik des fetalen Alkoholsyndroms
(MAJEWSKI ET AL., 1977)

Bei fast allen Kindern, die ein fetales Alkoholsyndrom zeigen, ist eine Wachstumsverzögerung zu erkennen, die schon intrauterin beginnt.

Die Kinder haben ein niedriges Geburtsgewicht und bleiben in der Wachstumsentwicklung unter dem Durchschnitt normaler Kinder (MULHIVILL 1976, MAJEWSKI 1978).

Von besonderer Bedeutung für die Kinder ist die mentale Retardierung, die ihren Lebensweg entscheidend beeinträchtigt. Sie wird mit zunehmendem Alter deutlicher. Die statomotorische Entwicklungsverzögerung kann bei intensiver Förderung der Kinder mit der Zeit ausgeglichen werden. Sie ist in den ersten beiden Lebensjahren am stärksten ausgeprägt (NESTLER, SPOHR, STEINHAUSEN 1981). Beide Symptome bedeuten für die Kinder jedoch eine wesentliche Einschränkung und es gilt, gerade in therapeutischer Hinsicht, ihre Ursachen zu erforschen.

Der Mikrozephalus, der bei den meisten Kindern zu finden ist, weist auf ein Hirnwachstumsdefizit hin. Bei schweren Formen des fetalen Alkoholsyndroms ist er bereits bei der Geburt festzustellen, bei leichteren Fällen während der weiteren Entwicklung der Kinder. Im Allgemeinen entspricht der Mikrozephalus dem Schädigungsgrad durch den Alkohol (NESTLER UND MITARBEITER, 1981).

MAJEWSKI beschreibt, daß sich bei 76 Kindern mit nachgewiesenem FAS zwar Körpergewicht und -größe bis zum 6.-9. Lebensjahr dem Alter entsprechend normal entwickelt haben, der Kopfumfang jedoch weiterhin unter der Altersnorm lag (MAJEWSKI, 1976).

Neurologisch auffällig ist die cerebelläre Symptomatik der Kinder (CLARREN und SMITH, 1978). Während bei Säuglingen häufig eine Muskelhypotonie zu finden ist, steht bei älteren Kindern eine oft ausgeprägte Hyperaktivität und Ataxie im Vordergrund.

Spezifische neuropathologische Veränderungen, die die Symptome der Kinder erklären könnten, hat man bisher noch nicht gefunden. In den wenigen bisher veröffentlichten Sektionsbefunden werden verschiedene Mißbildungen wie Dysraphie, Porenzephalus, Hydranenzephalus, Heterotopien, Mikrodysplasien und strukturelle Fehlbildungen des Gehirns beschrieben (CLARREN und SMITH 1978, PEIFFER 1979, WISNIEWSKI ET AL., 1983). Sie geben jedoch keinen Hinweis auf ein spezifisches Schädigungsmuster durch Alkohol, sondern bestätigen nur den teratogenen Einfluß des Alkohols.

Auf die weiteren Symptome der AE möchte ich im Rahmen dieser Arbeit nicht näher eingehen, da sie im Zusammenhang mit unserem Versuch weniger Bedeutung haben.

1.3 Pathogenese des fetalen Alkoholsyndroms

Alkohol wird vom Menschen vor allem im oberen Dünndarm resorbiert und schnell im Körper verteilt. Er überwindet rasch die Blut-Hirn-Schranke und reichert sich im Gehirn, vor allem in der *Formatio reticularis*, in der Großhirnrinde und im Kleinhirn an (ERICKSON, 1976). Alkohol überschreitet die plazentare Barriere, so daß beim Feten gleiche Serumspiegel wie bei der Mutter zu messen sind (WALTMANN AND INIQUEZ, 1972, JONES ET AL., 1973, MANN UND MITARBEITER, 1975).

Äthanol kann vom Embryo kaum abgebaut werden, da die zur Metabolisierung nötige Alkoholdehydrogenase noch fehlt. Beim Feten ist sie zwar schon nachweisbar, liegt aber in geringerer Konzentration als beim Erwachsenen vor (PIKKARAINEN UND RÄIHÄ, 1968).

Die teratotoxische Schädigung des Alkohols gilt zwar heute als weitgehend gesichert, die pathogenetische Erklärung fehlt jedoch. Dies führte bisher häufig zu Kontroversen um die Gültigkeit des Syndroms.

In der Literatur sind verschiedene Ansätze zu finden, die die Pathogenese des Syndroms zu erklären versuchen. Im Mittelpunkt der Diskussion steht die Frage, ob Alkohol per se teratogen wirkt oder ob die Schädigungen des Fetus auf Mangelercheinungen zurückzuführen sind, die bei der Mutter durch regelmäßigen Alkoholkonsum entstanden sind. Alkohol beeinflußt die gastrointestinale Absorption und die Metabolisierung von Nährstoffen (ABEL, 1980).

Bei Alkoholikerinnen wurde ein Mangel an Fol- und Aminosäure, Proteinen und Vitamin B-Komplex gefunden (OLSON, 1973). Außerdem sind verschiedene Mineralien vermindert: Zink, Magnesium, Kalium (ABEL, 1980). Dieses Mineraliendefizit kann auch für sich alleine Wachstumsverzögerungen und cerebrale Mißbildungen verursachen (ARAKAWA, 1970, HURLEY, 1976, ABEL, 1980). Bisher konnten diese nutritiven Faktoren von maternalen Seite als Ursache für die bei den Kindern beobachteten

Schädigungen nicht ausgeschlossen werden.

Kritiker weisen auf den verstärkten Nikotinabusus der Alkoholikerinnen hin, der verantwortlich für die Schädigungen der Kinder sein könnte. In mehreren Untersuchungen wurde festgestellt, daß Kinder von Raucherinnen ein geringeres Geburtsgewicht haben als von Nichtraucherinnen, öfter Aborte, Frühgeburten und eine höhere perinatale Mortalität aufzuweisen sind (RUSH AND KASS, 1972, MEYER UND MITARBEITER, 1976, MEBERG UND MITARBEITER, 1979). Die typischen Symptome des fetalen Alkoholsyndroms, wie z.B. die dysmorphen Stigmata, konnten bei den durch Nikotin geschädigten Kindern bisher jedoch nicht nachgewiesen werden.

Diskutiert wird außerdem, ob die verschiedenen Grade des fetalen Alkoholsyndroms durch unterschiedliche Alkoholkonzentrationen hervorgerufen werden, d.h. daß ein hoher Blutalkoholspiegel bei der Mutter mit einer schwereren Schädigung beim Kind verbunden ist als ein niedriger. Es ist auch fraglich, ob chronische Alkoholikerinnen, die seit Jahren trinken, häufiger schwerst geschädigte Kinder gebären als Frauen, die erst kurz vor der Schwangerschaft begonnen haben, zu trinken (MAJEWSKI UND MITARBEITER, 1976, LITTLE, 1977, HANSON UND MITARBEITER, 1978). MAJEWSKI UND MITARBEITER (1976) fanden weder einen Zusammenhang zwischen der täglich aufgenommenen Alkoholmenge der Mütter und dem Schädigungsgrad der Kinder noch einen Einfluß der Dauer des Alkoholismus vor der Schwangerschaft auf den Grad der Schädigung bei den Kindern.

Dagegen konnte LITTLE (1977) nachweisen, daß mäßiger Alkoholkonsum vor der Schwangerschaft zu geringerer Gewichtsreduktion bei den Kindern führt als Alkoholkonsum in der späteren Schwangerschaft.

Azetaldehyd ist das unmittelbare Dehydrogenierungsprodukt des Äthylalkohols. Möglicherweise wirkt dieses Produkt zytotoxisch auf den Feten, wobei es ihm über den mütterlichen

Kreislauf zugeführt wird (JONES UND SMITH, 1973). KESÄNIEMI UND SIPPEL (1975) konnten zwar in der Plazenta alkoholbehandelter Ratten Azetaldehyd feststellen, nicht jedoch beim Feten selbst. RANDALL UND MITARBEITER (1977) wiesen zum ersten Mal bei Mäusefeten Azetaldehyd nach. Bei chronischen Alkoholikerinnen wurde Azetaldehyd in wesentlich höheren Konzentrationen gefunden als bei Nichttrinkerinnen, die die gleiche Alkoholmenge vor der Messung erhalten hatten (VEGHELYI UND OSZTOVICS, 1978). VEGHELYI stellte auch in einem Kommentar zu der Untersuchung von WRIGHT UND MITARBEITERN (1983), die den Einfluß von Alkoholkonsum auf das Geburtsgewicht bei den Kindern von 900 Frauen untersucht haben, Azetaldehyd als den schädigenden Faktor beim fetalen Alkoholsyndrom dar.

RYLE UND THOMSON (1983) halten die von VEGHELYI gefundenen Azetaldehydwerte jedoch für zweifelhaft, da sie seine Methode für ungenau halten. Sie schlagen die gaschromatografische Bestimmung von Azetaldehyd vor, die wesentlich genauere Werte des Azetaldehydspiegels geben soll.

Unterschiedliche Meinungen bestehen auch darüber, in welcher Phase der Schwangerschaft der Alkohol schädigt. Dies zeigt sich besonders an dem unterschiedlichen Gebrauch der Begriffe Alkoholembryopathie - in Deutschland - und fetales Alkoholsyndrom - hauptsächlich im englischsprachigen Raum -. Wir haben uns entschieden, den Begriff "fetales Alkoholsyndrom" zu benutzen, da wir nach unserem Versuch und Durchsicht der Literatur eher Hinweise für eine Schädigung des Feten finden.

Deutliche Mißbildungen wie bei einer typischen Embryopathie wurden insgesamt seltener gefunden, wobei eine eindeutige Zuordnung zu einer der beiden Entwicklungsperioden auch nach den vielen veröffentlichten Untersuchungen sicher noch nicht zu machen ist.

Die vielen offenen Fragen zur Pathogenese machen deutlich, daß weitere experimentelle Untersuchungen zum fetalen Alkoholsyndrom notwendig sind.

1.4 Tierexperimentelle Untersuchungen

PFÖRRINGER beschrieb 1912 bei Jungen alkoholisierter Hunde Früh- und Totgeburten sowie Kleinhirnschädigungen (PFÖRRINGER 1912). STOCKARD UND PAPANICOLAOU fanden 1918 bei Meerschweinchen, denen während der Schwangerschaft Alkohol gegeben worden war, kleinere Würfe, erhöhte Geburtsmortalität und geringeres Geburtsgewicht der Jungtiere (GREEN 1974). Die Ergebnisse dieser und darauf folgender Experimente waren jedoch wegen methodischer Unzulänglichkeiten wenig zu bewerten.

In neueren, wissenschaftlich fundierteren Tierexperimenten an Hühnerembryos (SANDOR, 1968), Mäusen (KRONICK, 1976, CHERNOFF, 1977), Meerschweinchen (PAPARA-NICHOLSON, 1957) und Ratten (SANDOR UND AMELS, 1971, TZE UND LEE, 1975, VOLK, 1977) lassen sich die klinischen Befunde des FAS dadurch bestätigen, daß hohe Äthanolspiegel bei schwangeren Tieren eine Reihe embryo-fetaler Mißbildungen erzeugen. CHERNOFF erreichte 1977 als Erster durch orale Alkoholzufütterung bei trächtigen Mäusen ein Schädigungsmuster, das dem fetalen Alkoholsyndrom entspricht (CHERNOFF, 1977).

Die prä- und postnatale Dystrophie, eines der Kardinalsymptome des FAS, läßt sich in verschiedenen Versuchen bestätigen. Tiere, deren Mütter während der Schwangerschaft Alkohol bekommen haben, zeigen ein geringeres Geburtsgewicht und erhöhte postnatale Mortalität (RANDALL AND RILEY, 1981). SHAYWITZ sowie VOLK wiesen eine verzögerte postnatale Gewichtsentwicklung bei jungen Ratten nach, denen während der Embryo- und Fetalzeit Alkohol durch die Mutter zugeführt wurde (VOLK, 1977, SHAYWITZ, 1979).

Um zu beweisen, daß Alkohol und nicht eines seiner Metabolisierungsprodukte die in den Versuchen beobachteten Schädigungen

gungen verursacht, entwickelte BROWN ein neues Versuchsmo-
dell. Er führte Rattenembryos zwischen dem 9.-12. Tag Alko-
hol zu. Während dieser Entwicklungsphase können die Tiere
noch nicht genügend Enzyme bilden, um Alkohol abzubauen (beim
Menschen entspricht der Zeitraum dem 20.-30. Tag nach Gesta-
tion). BROWN fand bei den Tieren reduzierte Körper- und Kopf-
längen und verringerten DNA-Gehalt (BROWN AND AL., 1979).

Andere Autoren versuchten dagegen, die These zu unterstützen,
daß Azetaldehyd - das Abbauprodukt des Alkohols - die Embryos
schädigt (OSHEA UND KAUFMANN, 1979). Sie injizierten
schwangeren Mäusen Azetaldehyd intravenös am 7., 8. und 9.
Gestationstag. Die 10 Tage alten Embryos waren kleiner als
die Kontrollen, die 19 Tage alten Embryos wogen außerdem
weniger als die Kontrollen. Außerdem zeigten sich bei den
Versuchsembryonen Störungen der cranialen Entwicklung.

Die Autoren folgerten daraus, daß Azetaldehyd teratogen wir-
ken und für einige teratogene Effekte beim fetalen Alkohol-
syndrom verantwortlich sein könnte, die bisher immer auf
Äthanol zurückgeführt wurden.

Diese tierexperimentellen Untersuchungen tragen dazu bei,
die somatische Retardierung der Kinder zu erklären, geben
aber nur wenig Hinweise auf die cerebrale Symptomatik der
Kinder. Zur Klärung der Pathogenese des Syndroms sind des-
halb gleichzeitig neuroanatomische Untersuchungen notwendig,
die in letzter Zeit auch in zunehmendem Umfang durchgeführt
werden.

1.5 Neuroanatomische Ergebnisse tierexperimenteller Unter- suchungen

In den ersten neuroanatomischen Untersuchungen von Mäuse-
embryonen und -feten, denen über die Mütter Alkohol zuge-
führt wurde, fand man vorwiegend cerebrale Mißbildungen wie
erweiterte Hirnventrikel, Fehlen des Corpus callosum und

verzögerten Schluß des Neuralrohrs (CHERNOFF, 1977, O'SHEA UND KAUFMANN, 1979). KRONICK gab Mäusen vom 8.-10. Tag der Schwangerschaft Äthanol per intraperitonealer Injektion und fand bei den Nachkommen eine signifikant höhere Rate von congenitalen Mißbildungen wie Kolobome und Ektrodaktylien (KRONICK, 1976). Derartige Schädigungen konnten bei Kindern mit fetalem Alkoholsyndrom jedoch kaum nachgewiesen werden und weder die mentale Retardierung noch die cerebellare Symptomatik der Kinder befriedigend erklären.

Aufschlußreicher für die Pathogenese dieser Symptome scheinen Untersuchungen zu sein, die sich mit der Entwicklung des Hirngewichts und der Hirnzellen befassen.

TZE UND LEE beobachteten bei Jungtieren, deren Mütter während der Schwangerschaft Alkohol übers Trinkwasser erhalten hatten, Mikrocephalie (TZE UND LEE, 1975).

KORNGUTH beschrieb 1979 geringere Körper-, Hirn- und Kleinhirngewichte bei Rattenjungen, deren Mütter zwischen dem 3. und 20. Tag der Schwangerschaft Alkohol in einer flüssigen Diätnahrung bekommen haben. Die äußere Körnerschicht der Kleinhirne war am 11. und 14. Lebenstag dicker als bei den Kontrollen (KORNGUTH, 1979).

In lichtmikroskopischen Untersuchungen hat VOLK eine verzögerte Kleinhirnentwicklung bei Nachkommen alkoholernährter Rattenmütter festgestellt. Die äußere Körnerschicht persistierte bei den Versuchstieren über den 21. Tag hinaus, an dem sie bei den Kontrollen nicht mehr zu sehen war (VOLK, 1977). In anderen Arbeiten untersuchte er die Reifung der Purkinjezellen bei Ratten mit fetalem Alkoholsyndrom und fand dabei eine verzögerte Reifung des Cytoplasmas und geringere Zellkerndurchmesser am 7. Lebenstag (VOLK, 1981, 1984).

Die zelluläre Zusammensetzung des Kleinhirns bei FAS im Tierversuch untersuchten auch BORGES UND LEWIS (BORGES UND LEWIS, 1982 und 1983). Sie gaben Rattenmüttern während der Schwangerschaft und 21 Tage nach Geburt im Trinkwasser Äthanol. Die Jungtiere zeigten zwar keine signifikante Reduzierung

des Körper- und Hirngewichts, jedoch ein deutlich geringeres Kleinhirngewicht am 21. Lebenstag. Die Anzahl der Purkinjezellen im Kleinhirn war nicht reduziert. Dagegen waren signifikant weniger Körnerzellen vorhanden, so daß das Verhältnis von Körner- zu Purkinjezellen reduziert war.

Der Pyknoseindex in der äußeren Körnerschicht war bei den Versuchstieren am 21. Tag noch deutlich erhöht, während die Mitoserate unverändert war.

Interessant im Zusammenhang mit der verzögerten Entwicklung beim FAS sind auch Untersuchungen über die mitochondriale Funktion bei Jungtieren alkoholbehandelter Tiere. Auf die Leber- und Hirnmitochondrien konnte kein negativer Effekt durch die Alkoholbehandlung festgestellt werden (PILSTRÖM UND KIESSLING, 1967). Die mitochondriale Proteinsynthese wird jedoch sowohl durch Alkohol wie Acetaldehyd negativ beeinflusst, wie BURKE UND RUBIN (1979) in ihrer Untersuchung beschrieben.

Arbeiten zur enzymatischen Ausreifung der Kleinhirnrinde bei FAS sind uns bisher nicht bekannt. Enzymhistochemische Untersuchungen stellen eine empfindliche Methode zum Nachweis zellulärer Schäden dar und könnten Hinweise für die prä- und postnatale Entwicklungsverzögerung geben.

1.6 Tierexperimentelle Problematik

Neben dem grundsätzlichen Problem, Versuchssituation und menschliche Realität anzugleichen, ergeben sich bei dem Versuch, die Alkoholembryopathie bei Tieren zu reproduzieren, besondere Schwierigkeiten.

Die unterschiedlichen Wachstumsphasen bei Mensch und Tier müssen berücksichtigt werden, um vergleichbare Aussagen machen zu können. Der sogenannte "growth spurt" des Kleinhirns stellt eine Reifungsperiode dar, die axonales und dendritisches Wachstum sowie Vermehrung der Gliazellen und beginnende

Myelinisation umfaßt. Die Differenzierung des Kleinhirns findet in dieser Periode statt, was die besondere Empfindlichkeit gegenüber verschiedenen Noxen erklärt (DOBBING, 1968). Bei der Ratte beginnt der "growth spurt" vor der Geburt, läuft jedoch überwiegend postnatal ab mit punctum maximum am 10.-12. Lebenstag. Beim Mensch vollzieht sich dieselbe Entwicklung sowohl prä- wie postnatal mit Höhepunkt am 1. Lebenstag (Abb. 1). Hieraus ergibt sich, daß Alkohol vor und nach der Geburt gegeben werden muß, um das Versuchsergebnis auf die menschliche Entwicklung beziehen zu können.

Grundliegende Unterschiede zwischen Mensch und Tier bestehen in der Metabolisierungsrate von Alkohol. Die Ratte zeigt jedoch ein sehr ähnliches Verteilungsmuster von Alkohol wie der Mensch (RASKIN UND SOKOLOFF, 1972). Sie eignet sich deshalb gut für Versuche zum fetalen Alkoholsyndrom.

Ein weiteres Problem besteht darin, beim Versuchstier chronischen Alkoholismus zu erzeugen.

Hier erscheint es sinnvoll, dem Muttertier auch nach der Geburt weiter Alkohol zu geben, da bei Trinkerinnen ein plötzliches Absetzen der Droge nach Geburt kaum zu erwarten ist.

Entscheidend für das Versuchsergebnis ist außerdem die Form, in welcher Alkohol angeboten wird, damit er von den Versuchstieren angenommen wird und nutritive Mängel möglichst ausgeschlossen werden. In den letzten Jahren hat sich für diese Versuche die Flüssigdiät "Stardit^R", gemischt mit Alkohol, durchgesetzt.

Der Blutalkoholspiegel sollte gemessen werden, um sicher davon ausgehen zu können, daß der Alkohol in richtiger Dosis angeboten wird.

Als Kritik an früheren Versuchen ist häufig die Frage zu finden, ob die beobachtete Schädigung direkt durch Alkohol

oder indirekt über mütterliche Mangelercheinungen verursacht wurde. Um diese durch alkoholinduzierte maternale Faktoren postnatal beurteilen zu können, wird in den neueren Versuchen die "foster-Technik" verwandt, d.h. ein Teil der Jungtiere wird nach der Geburt von ihren Müttern getrennt und zu Ammen gesetzt (RANDALL AND RILEY, 1981).

Bisher gibt es nur wenige Versuche, die die genannte Problematik berücksichtigen und die toxische Wirkung des Alkohols in Zusammenhang mit der cerebellaren und cerebralen Entwicklung setzen. Um diese Schädigung möglichst aussagekräftig zu untersuchen, müssen sowohl Meßdaten statistisch ausgewertet werden wie histologische Befunde berücksichtigt werden.

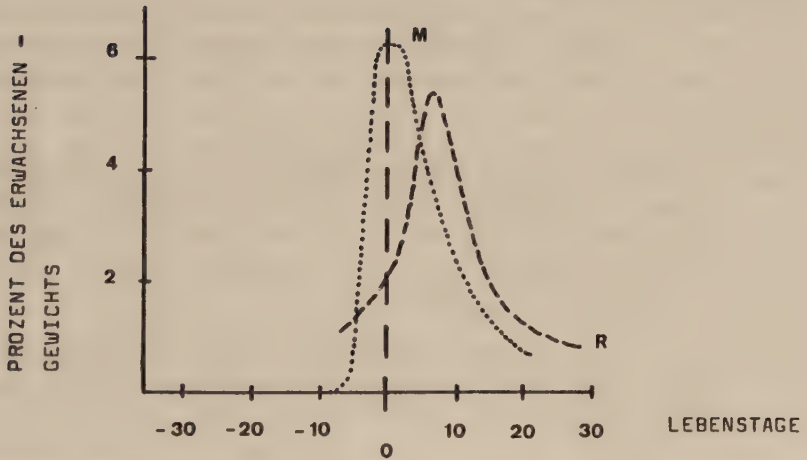


Abb. I: Auftreten des sogenannten "growth spurt": dargestellt ist die Wachstumsgeschwindigkeit beim Mensch (= M) und der Ratte (= R) (Mod. nach DAVISON UND DOBBING, 1968)

2. FRAGESTELLUNG

Im Hinblick auf das fetale Alkoholsyndrom ergeben sich folgende Fragen, die wir mit dem durchgeführten Versuch zu beantworten versuchen.

1. Ist postnatal eine Wachstumsverzögerung festzustellen, wenn Alkohol auch während der Stillzeit weitergegeben wird?
2. Wie wirkt sich im tierexperimentellen Modell die chronische Alkoholintoxikation während bestimmter neuro-naler Reifungs- und Differenzierungsphasen auf das ZNS aus? Sind Verzögerungen im sogenannten "growth spurt" (s. Abb. I) zu erkennen?
3. Lassen sich am Kleinhirn morphologische Veränderungen finden, die die psychomotorische Retardierung erklären können?
4. Lassen sich Störungen in der Ausreifung der enzymatischen Ausstattung des Kleinhirns feststellen? Wirkt sich Alkohol auf den Energieumsatz der Zellen des Kleinhirns aus?

In der vorliegenden Arbeit werden die Befunde der Lichtmikroskopie zur Histogenese und der enzymatischen Ausreifung des Kleinhirns dargestellt. Daten zur Körper- und Hirngewichtsentwicklung der Versuchstiere werden erläutert, um den Zusammenhang zur histologisch dargestellten cerebralen Entwicklung herzustellen.

3. NEUROANATOMISCHE GRUNDLAGEN

3.1 Differenzierung der Kleinhirnrinde

Die Histogenese des Kleinhirnwurms bei der Ratte ist von ADDISON UND ALTMAN ausführlich untersucht worden (ADDISON, 1921, ALTMAN, 1969, 1972):

Während der ersten Lebenswoche ist das Wachstum langsam. Bei den von uns untersuchten Kontrolltieren ist am ersten Tag nur die äußere Körnerschicht zu sehen, am 4. Tag äußere Körnerschicht und mehrlagig angeordnete Purkinjezellen (s. Abb. II).

In der äußeren Körnerschicht findet keine Zelldifferenzierung statt. Es werden aber für die proliferative Matrix der Kleinhirnrinde Zellen bereitgestellt, die die Vorgänger von Körnerzellen und Gliazellen sind (ALTMAN, 1969, 1972). Diese Zellen bilden die proliferative und prä migratorische Zone der äußeren Körnerschicht.

Bis zum 8. Tag nimmt die äußere Körnerschicht an Breite zu, was auf die hohe DNS-Synthese und Mitoserate zurückzuführen ist. Die Purkinjezellen, die bisher mehrlagig angeordnet waren, sind jetzt in einer Reihe nebeneinander zu finden (die sogenannte "monolayer") (s. Abb. II).

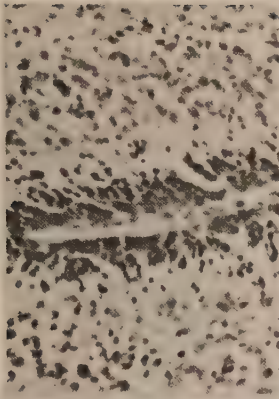
Mit Beginn des "growth spurt" der Ratte (s. Abb. I) verschmälert sich die äußere Körnerschicht. DNA-Synthese- und Mitoserate nehmen ab. In der breiter werdenden Molekularschicht sind zunehmend vertikal orientierte schmale Zellen zu sehen, die von der prä migratorischen Zone in die innere Körnerschicht wandern und dort zu Körnerzellen differenzieren (s. Abb. II).

Wie auf den von uns untersuchten Präparaten zu sehen, nimmt die äußere Körnerschicht vom 12. Tag an kontinuierlich ab, die Molekularschicht wird breiter und die Purkinjezellen bleiben einreihig angeordnet (s. Abb. II).

Am 21. Tag ist die äußere Körnerschicht nicht mehr vorhanden. Die Molekularschicht ist breit, die Migration abgeschlossen. Die Rinde ist ausgereift.

Innerhalb der verschiedenen Lobuli des Vermis reifen zunächst die Fissura Prima und Nodus und Lingula (s. Abb. III). Tuber, Declive und Culmen sowie die Fissura secunda gehören zu den später reifenden Lobuli, wobei ein Entwicklungsunterschied von 2-3 Tagen zu finden ist.

1.T A G

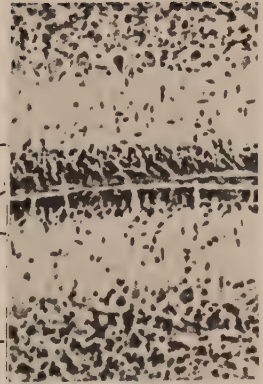


12.T A G

M L

A K

P



4.T A G



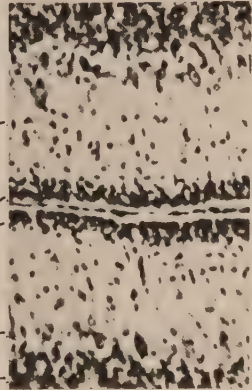
16.T A G

M L

A K

P

I K



8.T A G



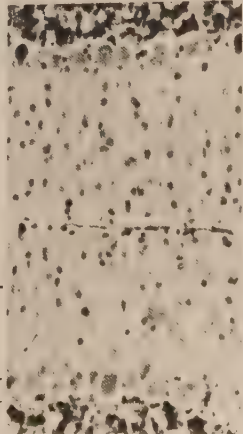
21.T A G

A K

M L

P

I K



Zu Abb. II, S. 25: Differenzierung der Kleinhirnrinde
- Präparate von unseren Kontrolltieren
(Paraffinschnitte, Vergrößerung 25 x 2)

AK = Äußere Körnerschicht

ML = Molekularschicht

P = Purkinjezelle

IK = Innere Körnerschicht

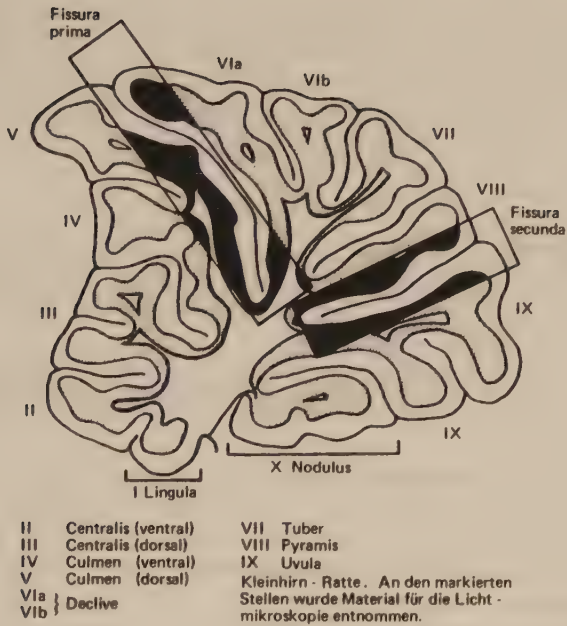


Abb. III: Darstellung des Kleinhirnwurms
Lingula, Nodulus, Fissura prima und
secunda wurden bei unseren Versuchstieren
entnommen und untersucht.

3.2 Entwicklung der Purkinjezellen

Die Purkinjezellen sind die wichtigste Neuronengruppe des Kleinhirns. Sie stammen bei allen Vertebraten von der ventrikulären Keimschicht des 4. Ventrikels ab. Bei der Ratte formen sie sich in der Foetal-Embryonalzeit am 14.-17. Tag. Ihren endgültigen Platz im Kleinhirnkortex erreichen sie cirka am 17. Tag, wo sie bis zur Postnatalperiode ruhen (VOLK, 1977, 1981, 1984).

In den ersten Tagen postpartal beginnt ihr Wachstum und beschleunigt sich mit Beginn der Proliferation und Migration der äußeren Körnerschicht (ALTMAN, 1969, 1972).

ALTMAN hat die verschiedenen Entwicklungsphasen folgendermaßen beschrieben:

Bis zum 3.-4. Tag postnatal findet die embryonale und foetale Entwicklungsphase statt.

Am 5.-9. Tag bilden die Purkinjezellen die "monolayer" (s. 3.1). Eine apikale Vergrößerung der Zellsomata mit deutlicher Vermehrung der Mitochondrien ist zu beobachten. Der primäre Dendrit bildet sich ab dem 10. Tag aus.

Bis zum 14. Tag runden sich Zytoplasma und Zellkern. Die Purkinjezellen sind von ausgereiften Zellen nicht zu unterscheiden.

In der 3. Lebenswoche differenziert sich der Dendritenbaum in Sekundär- und Tertiärdendriten. Beim Auswachsen der Dendriten wird durch ihre Länge die Höhe der Molekularschicht bestimmt.

3.3 Enzymatische Ausreifung der Kleinhirnrinde

Der Energieumsatz des zentralen Nervensystems stammt fast ausschließlich aus der Oxydation von Kohlenhydraten im Citronensäurezyklus (FRIEDE, 1957). Die Dehydrierung der Bernsteinsäure zur Fumarsäure durch die Succinodehydrogenase stellt eine wichtige Phase dieses Zyklus dar.

NADH gibt seinen Wasserstoff an die Enzyme der Atmungskette ab und hat damit eine wichtige Funktion im Energieumsatz (KARLSSON, 1977). Die Atmungskette ist in den Mitochondrien lokalisiert (KARLSSON, 1977).

Die Entwicklung der Enzymaktivität und der Mitochondrien sind eng miteinander verbunden (WOODWARD, 1969).

Mehrere Autoren haben die Ausreifung oxidativer Enzyme - NADH und Succinodehydrogenase - in den Zellen der Kleinhirnrinde bei Ratten beschrieben (FRIEDE, 1957, SOTELO UND WEGMANN, 1962, ADAMS, 1965, SHINONAGA, 1965, WOODWARD, 1969, ALTMANN, 1972).

Aus ihren Arbeiten ergibt sich folgende Entwicklung der Kleinhirnzellen:

In den ersten Lebenstagen, wo das Cerebellum noch undifferenziert ist, zeigt sich nur schwache Enzymreaktion. Als erstes Element reifen die Purkinjezellen, die sich am 3. und 5. Tag durch intensive Reaktion identifizieren lassen.

Am 7.-9. Tag beginnen die Dendriten auszuwachsen, am 12. Tag sind deren Verzweigungen NADH- und Succinodehydrogenase positiv.

Am 16. Tag sind die Dendriten nicht mehr zu erkennen. Sie liegen in einer Zone dichter diffuser Aktivität, die bis zum 20. Tag zur Oberfläche der Molekularschicht vordringt.

Die innere Körnerschicht beginnt parallel dazu am 9. Tag stärkere Enzymaktivität anzunehmen. Ihren endgültigen Aktivitätsgehalt hat sie am 16. Tag erreicht.

4. METHODIK UND MATERIAL

4.1 Tierexperimenteller Teil

Die Versuche wurden im Institut für Embryopharmakologie durchgeführt, zusammen mit Jörg Schweigler.

4.1.1 Material

Als Versuchstiere wurden 135 weibliche Wistarratten ausgesucht, die ein Durchschnittsgewicht von 175,6 g (151 g-202 g) hatten. Diese Ratten wurden mit der gleichen Zahl männlicher Ratten über Nacht zusammengebracht. Am nächsten Morgen wurde durch positiven Spermiennachweis im Vaginalsekret der Tag 0 der Schwangerschaft festgestellt. Jeweils 8 weibliche Tiere wurden daraufhin in Makrolonkäfige zusammengesetzt und am Schwanz gekennzeichnet. Durch diese Markierung war es jederzeit möglich, die einzelnen Tiere wiederzuerkennen.

4.1.2 Versuchsbedingungen

Im Tierstall des Embryonalpharmakologischen Instituts herrscht durch automatisch geregelten Tag/Nachtrhythmus, konstante Temperatur und Luftfeuchtigkeit sowie Füttern zu festen Zeiten ein kontrolliertes Versuchsmilieu.

Der Tierstall darf nur von bestimmten Personen betreten werden, die eine Doppelschleuse und Zwangsdusche passieren und in steriler Kleidung arbeiten müssen. Alle Versuchsgegenstände müssen autoklaviert werden. Durch diese Maßnahmen werden störende Einflüsse von außen ferngehalten.

4.1.3 Ernährung

Die Muttertiere wurden in drei Gruppen geteilt. 78 Versuchs- und 37 Kontrolltiere bekamen vom ersten Tag der Schwangerschaft bis zum Werfen die Flüssigkeit Stardit^R (Lappe) ad libitum. Stardit ist ein vollwertiges Nahrungsmittel für Ratten.

Bei den Versuchstieren wurden 33,3 % der Kalorien durch 98 %igen Alkohol (Äthylalkohol) ersetzt, so daß die fertige Starditmischung einen Alkoholgehalt von 10 % hatte. Die Tiere bekamen so 6-8 g 98 % Äthanol pro Kilogramm Körpergewicht.

Mit dieser Mischung wurden Blutalkoholwerte von 0,1-1,3 ‰ erreicht (gas-chromatographische Bestimmung nach MACHATA, 1967), wobei die Maxima mit 1,1 ‰ um Mitternacht und 1,3 ‰ um 2 Uhr früh lagen. Die Bestimmung der Alkoholblutspiegel erfolgte durch Prof. Klug-Institut für Gerichtsmedizin.

Die Futterlösungen wurden jeden Tag neu angesetzt und zu gleicher Zeit (9 Uhr früh) in desinfizierten Flaschen verabreicht.

Der Nahrungsverbrauch der Kontrolltiere betrug täglich 35,8 ml Stardit $\hat{=}$ 49,0 kcal. Die Versuchstiere tranken 28,3 ml Stardit-Alkohol-Gemisch pro Tag $\hat{=}$ 51,2 kcal pro Tag. Die Nahrungsaufnahme war also bei beiden Gruppen gleich.

Zwanzig weitere Kontrolltiere bekamen normales Trockenfutter (Altromin^R 1324).

4.1.4 Versuchsablauf

Die Ratten wurden jeden zweiten Tag gewogen. Am 20. Tag wurden sie in Einzelkäfige gesetzt. Am 21. und 22. Tag post conceptionem warfen die Tiere, wobei kein zeitlicher Unterschied zwischen Versuchs- und Kontrolltieren bezüglich des Geburtstermins festzustellen war. Die Wurfgrößen wurden nicht planimetriert (d.h. auf eine festgesetzte Zahl ausgeglichen), um die Daten verschieden großer Würfe miteinander vergleichen

zu können.

Ein Teil der Jungtiere wurde am 1. Tag von ihren Müttern getrennt und zu Ammen gesetzt. Dieser Tausch wurde vorgenommen, um den postnatalen Einfluß der Mutter, der sich durch alkoholinduzierten genetischen Schaden und alkoholbedingtes verändertes Fütterungsverhalten äußern könnte, überprüfbar zu machen.

Es entstanden folgende Gruppen:

- AA - Jungtiere, die bei ihrer während und nach der Schwangerschaft mit Stardit-Alkoholgemisch ernährten Mutter blieben
- KKST - Jungtiere, die bei ihrer während und nach der Schwangerschaft mit reinem Stardit ernährten Mutter blieben.
- KKNO - Jungtiere, die bei ihrer mit Normalfutter ernährten Mutter blieben.

Bei den folgenden Gruppen erhielten alle Ammen nach Geburt Trockenfutter:

- AKST - Jungtiere von Alkoholmüttern, die zu Starditammen gesetzt wurden.
- KSTA - Jungtiere von Starditmüttern bei Alkoholammen.
- AKNO - Jungtiere von Alkoholmüttern bei Normalammen
- KNOA - Jungtiere von Normalmüttern bei Alkoholammen

Die Jungtiere wurden jeden zweiten Tag gewogen, ab dem 8. Lebenstag bis zum 20. Tag jeden 4. Tag, weiterhin am 22., 23., 25., 30. und 32. Tag.

Totgeburten und postnatale Mortalität wurden registriert.

An den Tagen 1, 4, 8, 12, 16 und 21 wurde ein Wurf jeder Gruppe für die histologischen Untersuchungen getötet. Nach kurzer Äthernarkose wurden die Tiere decapitiert. Die Gehirne wurden sofort gewogen und für die weitere Bearbeitung präpariert (s. histologische Methoden S. 35).

Am 22. Tag wurden die Jungtiere von den Müttern getrennt und mit normalem Trockenfutter ernährt.

4.2 Messungen

Die Körpergewichte der Mütter wurden prä- und postnatal notiert und miteinander verglichen.

Bei den Jungtieren wurden sowohl die absoluten Körper-, Hirn- und Lebergewichte sowie die relativen Hirn- und Lebergewichte (Koeffizient $\text{Hirngewicht/Körpergewicht}$, $\text{Lebergewicht/Körpergewicht}$) bestimmt. Die Tiere wurden an jedem Messtag inspiziert und der Tag der Augenöffnung registriert.

An den Tagen 8, 12, 16, 20 wurde bei den Jungtieren Blut entnommen und aus dem Serum radioimmunologisch die Aktivität der Schilddrüsenhormone T_3 und T_4 bestimmt (im Nuklearmedizinischen Institut der FU Berlin von Priv.-Doz. Dr. H. Meinhold).

Die Arbeit wurde dann geteilt. Die Auswertung der statistischen Daten erfolgte durch Jörg Schweigler, die der histologischen Präparate ist in der vorliegenden Arbeit dargestellt.

STARDIT^R N

AUFBAUNAHHRUNG

proteinreich, fettarm, vitaminreich
leicht verdaulich und gut verwertbar

100 g STARDIT^R N Pulver enthalten:

Protein	22,3 g
Fett	3,2 g
Kohlenhydrate	64,1 g

Mineralstoffe (Asche)

davon	
Eisen	3,8 mg
Calcium	830 mg
Phosphor	655 mg
Natrium	356 mg
Kalium	1020 mg

Die Analysenwerte unterliegen den bei Natur-
produkten üblichen Schwankungen.

Mineral- und Vitaminzusatz auf 100 g STARDIT^R N Pulver:

-Tocopherylacetat	5,0 mg
Natrium-L-ascorbat	37,0 mg
Thiamin-chlorid-hydrochlorid	1,1 mg
Riboflavin	1,1 mg
Pyridoxin-hydrochlorid	1,1 mg
Nicotinamid	11,0 mg
Calcium-D-pantothenat	4,4 mg
Cyanocobalamin	0,4 µg
Eisen (II)-sulfat getr.	10,5 mg

100 g STARDIT^R N entsprechen
1590 kJ (374 kcal) -
BE = 5,3

Tab. 3: Flüssigkeitsnahrung Stardit

4.3 Histologische Methoden

Nach Tötung der Tiere wurde der Kopf durch leichtes Abtupfen auf Zellstoff entblutet. Die noch sehr weiche Schädelkalotte ließ sich relativ leicht mit einer Pinzette abtragen. Das Gehirn wurde mit einem stumpfen Instrument von rostral nach caudal von der Schädelbasis gelöst und in toto entnommen. Nach Inspektion unter der Lupe und dem Wiegen der Gehirne wurden diese sofort für die Histologie fixiert.

4.3.1 Paraffinschnitte - Celloidinschnitte

Ein Teil der Gehirne wurde in 5 %igem Formaldehyd fixiert und in Paraffin und Celloidin eingebettet. Die medianen Sagittalschnitte wurden mit Hämatoxylin-Eosin und nach Nissl (Toluidinblau-Gallocyanin) gefärbt.

4.3.2 Gefrierschnitte - Histochemie

Ein anderer Teil der Gehirne wurde nach Entnahme und Teilung durch einen medianen Sagittalschnitt sofort in flüssigem Stickstoff tiefgefroren. Die Gehirnböcke wurden im Kryostat in 8 μ dicke Schnitte geschnitten und mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt. Zur Darstellung der oxidativen Enzyme wurde die Reaktion der Natrium-Tetrazolium-Reduktase und der Succinatdehydrogenase untersucht.

Für die NADH-Tr-Reaktion wurden die unfixierten Gefrierschnitte mit einer Lösung aus NADH-Substanz, Nitro-BT und Phosphatpuffer für 1/2 Stunde bei Zimmertemperatur überschichtet. Dabei dient Nitro-BT als Tetrazolium-Salz. Nach dem Spülen werden die Schnitte in 10 % Formalin fixiert und nach Entwässerung in der aufsteigenden Alkoholreihe eingelegt.

Für die Succinatdehydrogenase-Reaktion wurden die Schnitte für eine Stunde bei Zimmertemperatur in Phosphatpuffer

gelöste Bernsteinsäure gestellt, nach dem Spülen in 10 % Formalin fixiert und in Glyceringelatine eingedeckt.

Die histologischen Präparate der Kleinhirne der Gruppen AA, KKST und KKNO wurden unter dem Lichtmikroskop angesehen. Fissura prima und secunda, Nodus und Lingula wurden fotografiert und miteinander verglichen.

Die Gehirne der anderen Gruppen wurden nicht histologisch untersucht.

- AA** - Jungtiere von Alkoholmüttern bei Alkoholmüttern
- KKST** - Jungtiere von Starditmüttern bei Starditmüttern
- KKNO** - Jungtiere von Normalmüttern bei Normalmüttern

Tab. 4: Benennung der Gruppen, die in der vorliegenden Arbeit untersucht wurden

5. ERGEBNISSE

5.1 Entwicklung der Körper und Hirngewichte

Die Entwicklung der Körper- und Hirngewichte der Jungtiere soll hier nur kurz dargestellt werden in Form der absoluten Gewichte. Weitere Zahlen sind der Arbeit von Jörg Schweigler zu entnehmen.¹⁾

Abb. IV zeigt, daß die Versuchstiere (AA) bis zum Tag 21 deutlich weniger an Hirn- und Körpergewicht zunehmen wie die Kontrolltiere. Die genauen Zahlen sind der Tabelle 5 zu entnehmen.

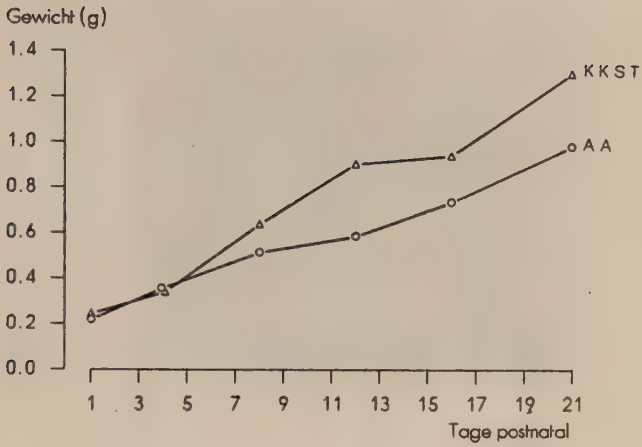
Interessant ist, daß die Tiere der Gruppe AA am ersten Lebenstag ein Hirngewicht haben, das 89,42 % des Wertes der Kontrolltiere beträgt. Am 8. Tag erreichen die Alkoholtiere nur noch 76,12 % des Hirngewichts der Kontrolltiere. Die größte Differenz liegt am 12. Tag, an dem die Hirne der Versuchstiere nur noch 64,82 % der Meßwerte der Kontrollen betragen.

Zur Veranschaulichung der unterschiedlichen Hirngewichte sollen die auf Seite 41 und 42 abgebildeten Hirnübersichten dienen, wo die Differenz deutlich zu sehen ist.

Im folgenden Ergebnisteil der Paraffin- und Gefrierschnitte sind die Körper- und Hirngewichte der Tiere jeweils angegeben.

1) Schweigler, Jörg (1984/85): Tierexperimentelle Untersuchungen zur Körper- und Gehirngewichtsentwicklung pränatal Alkohol exponierter Ratten. Dissertationsarbeit, z. Zt. im Druck

Entwicklung der Hirngewichte



Entwicklung der Körpergewichte

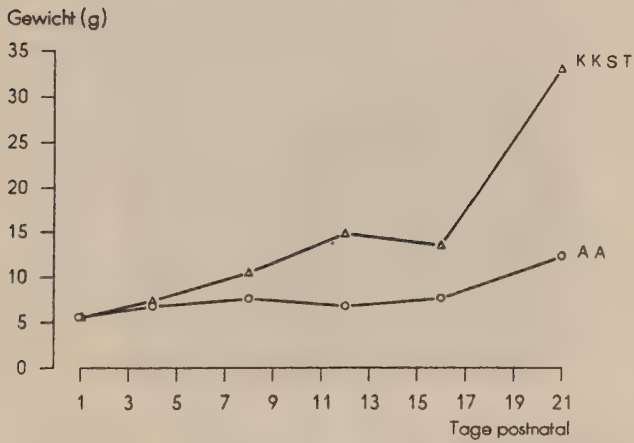
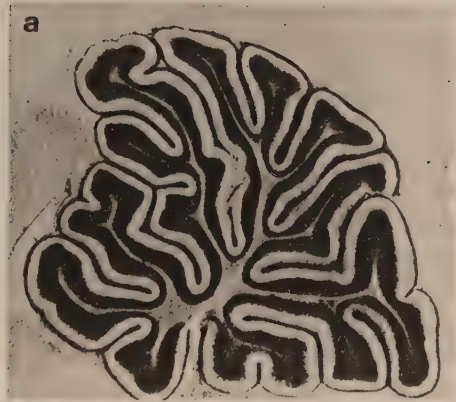


Abb. IV: Entwicklung der Körper- und Hirngewichte

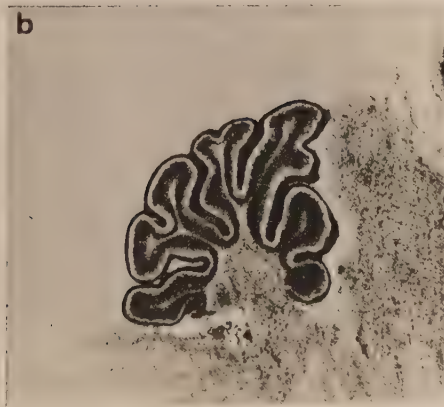
ENTWICKLUNG DER ABSOLUTEN GEHIRNGEWICHTE

GRUPPE	TAG 1	TAG 4	TAG 8	TAG 12	TAG 16	TAG 21
AA	0.2198 [±] 0.032 n = 28	0.3576 [±] 0.062 n = 24	0.5161 [±] 0.033 n = 29	0.5844 [±] 0.067 n = 17	0.7400 [±] 0.013 n = 13	0.9890 [±] 0.072 n = 7
KKST	0.2458 [±] 0.029 n = 10	0.3410 [±] 0.020 n = 10	0.6403 [±] 0.065 n = 13	0.9077 [±] 0.035 n = 9	0.9608 [±] 0.077 n = 16	1.3118 [±] 0.072 n = 7

Tab. 5: Entwicklung der absoluten Gehirngewichte

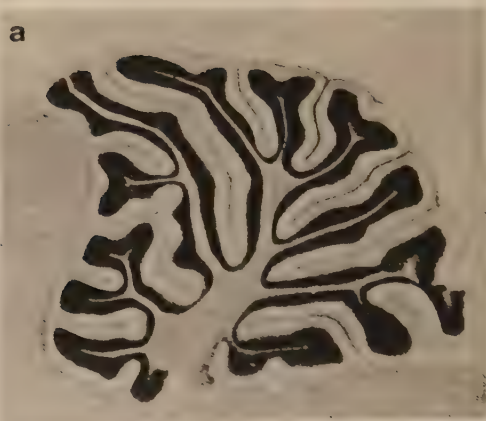


KG: 13,49 g
HG: 0,983 g



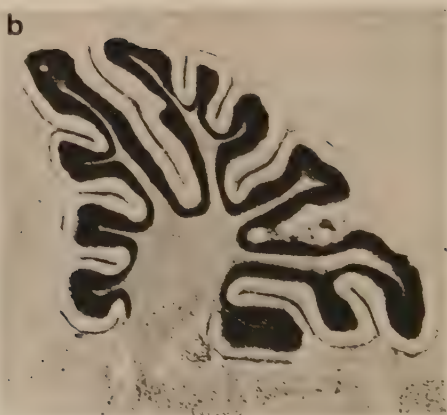
KG: 6,542 g
HG: 0,680 g

Abb. V: 16. Tag, Übersicht des Vermis; Celloidinchnitt, HE-Färbung, Vergrößerung 2,5/2,5
a: KKST - altersentsprechende Entwicklung
b: AA - deutlicher Größenunterschied zur Kontrolle



KG: 36,5 g

HG: 1,523 g



KG: 14,1 g

HG: 0,99 g

Abb. VI: 21. Tag, Übersicht des Vermis; Celloidinschnitt; HE-Färbung, Vergrößerung 2,5/2,5

a: KKST

b: AA - Deutlicher Unterschied in Gewicht und Größe der Vermisübersicht zum Kontrolltier

5.2 Ergebnisse der Paraffinschnitte zur Histogenese des Kleinhirnwurms

Alle folgenden histologischen Bilder der Kontroll- und Versuchstiere stammen aus dem Kleinhirnwurm (Abb. III).

Bei den 1 TAG alten Kontroll- und Versuchsjungtieren finden wir keinen histogenetischen Unterschied. Die äußere Körnerschicht ist von gleicher Zelldichte, die Molekularschicht und die Purkinjezellen sind noch nicht deutlich zu erkennen (Abb. 1).

Bei den 4 TAGE alten Kontroll- und Versuchstieren sind die Purkinjezellen schon deutlich sichtbar, liegen aber noch übereinander (Abb. 2).

Die Befunde der 8 TAGE alten Kontrolltiere entsprechen der in Abb. II dargestellten Normalentwicklung (Abb. 3a und b).

Bei den 8 TAGE alten Versuchstieren finden wir eine geringgradig schmalere äußere Körnerschicht trotz gleichen Körpergewichts (Abb. 3c). Es migrieren weniger Zellen von der äußeren zur inneren Körnerschicht (Abb. 4).

Wie erwartet, ist die äußere Körnerschicht der 12 TAGE alten Kontrolljungtiere schmäler als am 8. Tag (Abb. 5a, Abb. 6a,b, Abb. 8a). Die Proliferationsphase ist abgeschlossen. Die Migrationsphase hat ihren Höhepunkt erreicht: in der Molekularschicht sind viele wandernde Zellen zu sehen (Abb. 7a).

Die 12 TAGE alten Versuchsjungtiere zeigen eine ausgeprägte Wachstumsverzögerung. Die Proliferationsphase ist - außer in der Fissura prima - kaum entwickelt, was sich in der zwar zellreichen, aber noch schmalen äußeren Körnerschicht der Lingula zeigt (Abb. 5b und c). Die Migration hat begonnen (Abb. 7b), erreicht aber nicht die Aktivität der Kontrolltiere.

Die Purkinjezellen liegen dicht nebeneinander, teilweise übereinander (Abb. 6c, Abb. 8b), die Molekularschicht ist sehr schmal. Die Wachstumsretardierung ist besonders ausgeprägt bei den stark dystrophen Tieren (Abb. 5c).

Die 16 TAGE alten Kontrolltiere sind normal entwickelt (Abb. 9a, Abb. 10a, Abb. 12a). Die Zahl der migrierenden Zellen ist zurückgegangen (Abb. 11a).

Bei den 16 TAGE alten Versuchstieren sind mehr migrierende Zellen zu sehen (Abb. 11b). Die äußere Körnerschicht ist breiter als bei den Kontrollen. Die Molekularschicht schmaler (Abb. 9b, 10b, 12b). Einige Purkinjezellen liegen noch übereinander (Abb. 9b).

Am 21. TAG ist die Rinde der Kontrolltiere nahezu ausgereift (Abb. 13a,b). Die äußere Körnerschicht ist außer bei der Fissura secunda, die zu den sich später entwickelnden Anteilen des Vermis gehört, nicht mehr zu sehen (Abb. 14a,b, Abb. 16a,b).

Die 21 TAGE alten Versuchsjungtiere zeigen eine persistierende äußere Körnerschicht (Abb. 13c, 14c, 16c). Die Molekularschicht ist schmal (Abb. 13c, 14c, 16c). Während bei den Kontrolltieren die Migration von Körnerzellen fast beendet ist (15a), wandern bei den Versuchstieren noch einige Zellen von äußerer zu innerer Körnerschicht (Abb. 15b).

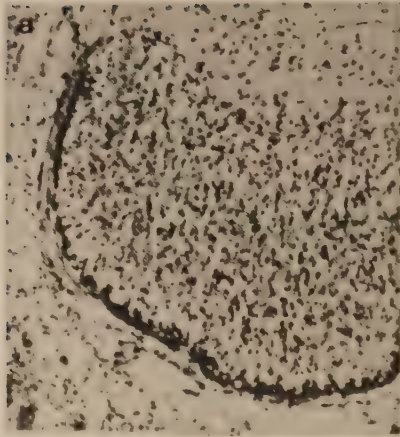
Die Versuchstiere zeigen also nach unseren Ergebnissen ab dem 8. Lebenstag eine verzögerte Entwicklung der Kleinhirnrinde, die bis zum 21. Tag anhält.

Lingula, Nodus und Fissura prima entwickeln sich sowohl bei Kontroll- wie Versuchstieren synchron, während sich die Fissura secunda erwartungsgemäß langsamer differenziert.

Ein histogenetischer Unterschied zwischen der normal und der mit Stardit ernährten Kontrollgruppe läßt sich nicht aufzeigen.

1. T A G

KG: 6,21 g
HG: 0,272 g



KG: 6,15 g
HG: 0,272 g

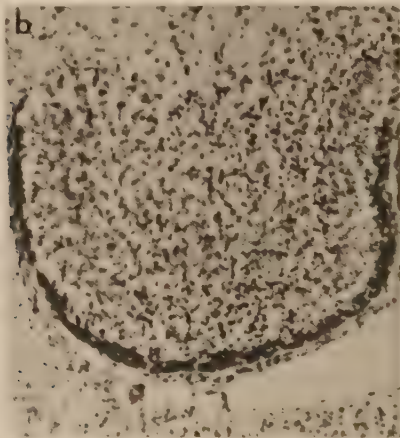
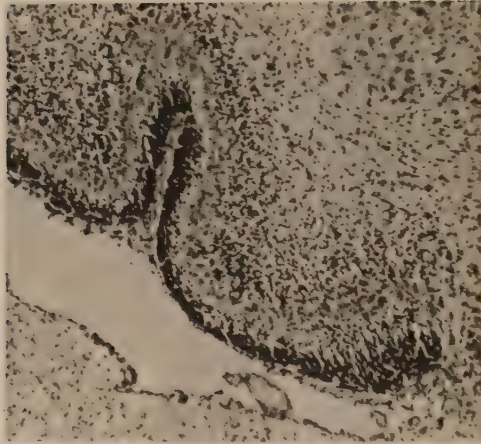


Abb. 1: 1. Tag, Lingula, Vergrößerung 25/2
a: KKST - Purkinjezellen und Molekularschicht
sind noch nicht zu erkennen
b: AA - Kein Unterschied zum Kontrolltier

4. T A G

KG: 7,94 g

HG: 0,359 g



KG: 6,89 g

HG: 0,280 g

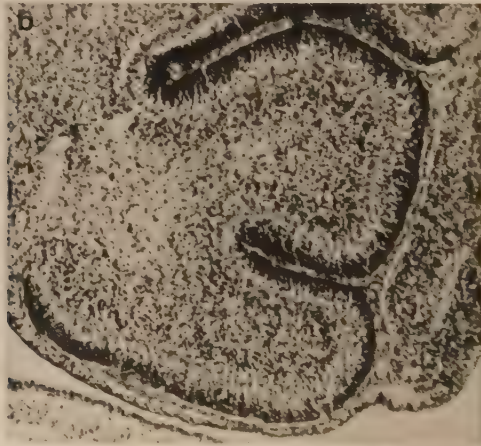


Abb. 2: 4. Tag, Nodus, Vergrößerung 10/3,2

a: KKST - Deutlich sichtbare Purkinjezellen, die jedoch noch übereinander liegen

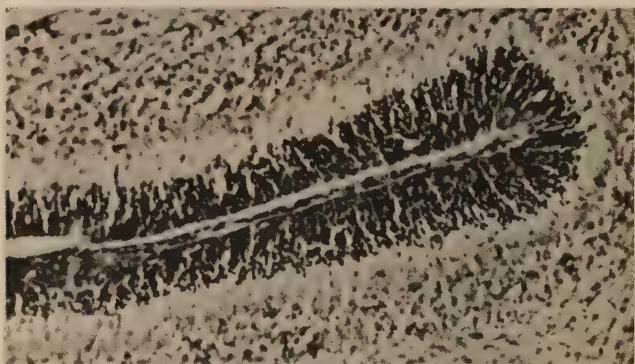
b: AA - Kein Unterschied zum Kontrolltier

8. T A G



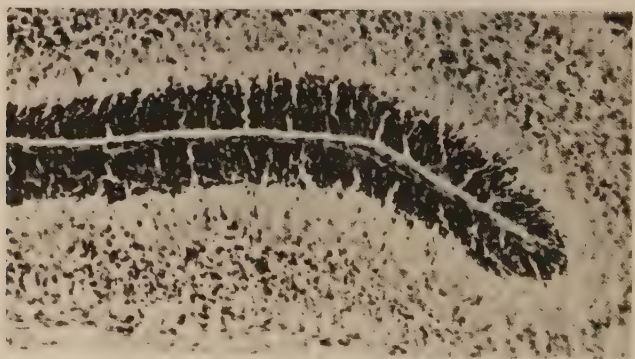
KG: 10,260 g

HG: 0,583 g



KG: 8,330 g

HG: 0,508 g



KG: 10,655 g

HG: 0,684 g

Abb. 3: 8. Tag, Fissura secunda, Vergrößerung 25/2

a: KKN0 und

b: KKST zeigen eine normale altersentsprechende Entwicklung

c: AA - trotz gleichen Körpergewichts wie KKN0 verschmälerte Körnerschicht

Zellmigration

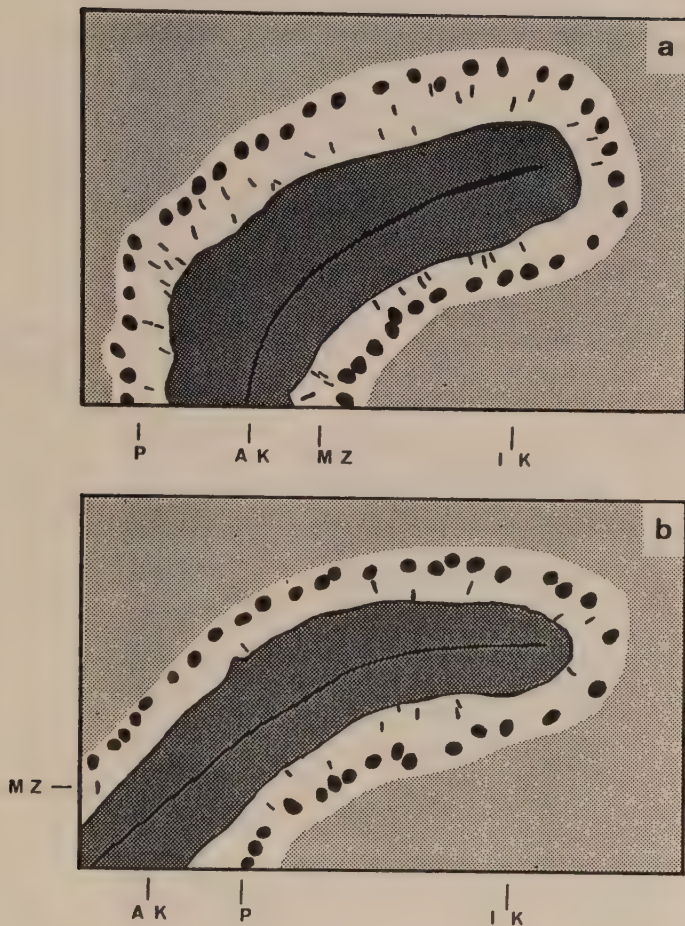


Abb. 4: 8. Tag, Fissura secunda

a: KKN0 - Die Migration hat begonnen.
In der Molekularschicht sind
längliche vertikal gerichtete
Zellen zu sehen, die zur inneren
Körnerschicht wandern.

b: AA - Spärliche Migration. Nur wenige
Zellen sind in Bewegung

AK = Äußere Körnerschicht, MZ = Migrierende Zelle,
P = Purkinjezelle, IK = Innere Körnerschicht

12. T A G

KG: 12,84 g

HG: 0,905 g



KG: 7,39 g

HG: 0,620 g



KG: 5,62 g

HG: 0,502 g

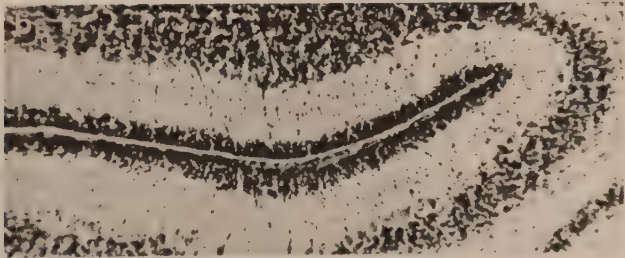


Abb. 5: siehe Seite 54

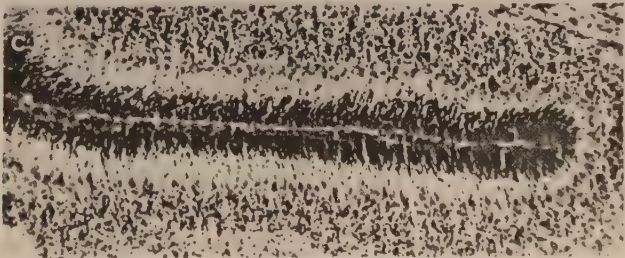
- Abb. 5: 12. Tag, Lingula, Vergrößerung 10/3,2
- a: KKNO - altersentsprechende Entwicklung
 - b: AA - Retardierung: schmale Molekularschicht, übereinanderliegende Purkinjezellen, die kaum von der inneren Körnerschicht zu unterscheiden sind
 - c: AA - stark dystrophes Tier, das eine noch stärkere Wachstumsverzögerung zeigt.



KG: 12,84 g
HG: 0,905 g



KG: 14,94 g
HG: 0,931 g



KG: 6,01 g
HG: 0,518 g

Abb. 6: 12. Tag, Fissura prima, Vergrößerung 10/3,2

a: KKN0 und

b: KKST - deutlichere Differenzierung der Rinde aufgrund individueller Unterschiede im Körpergewicht. Die Molekularschicht ist breiter als bei KKN0.

c: AA - Ausgeprägte Wachstumsverzögerung, stark dystrophes Tier.

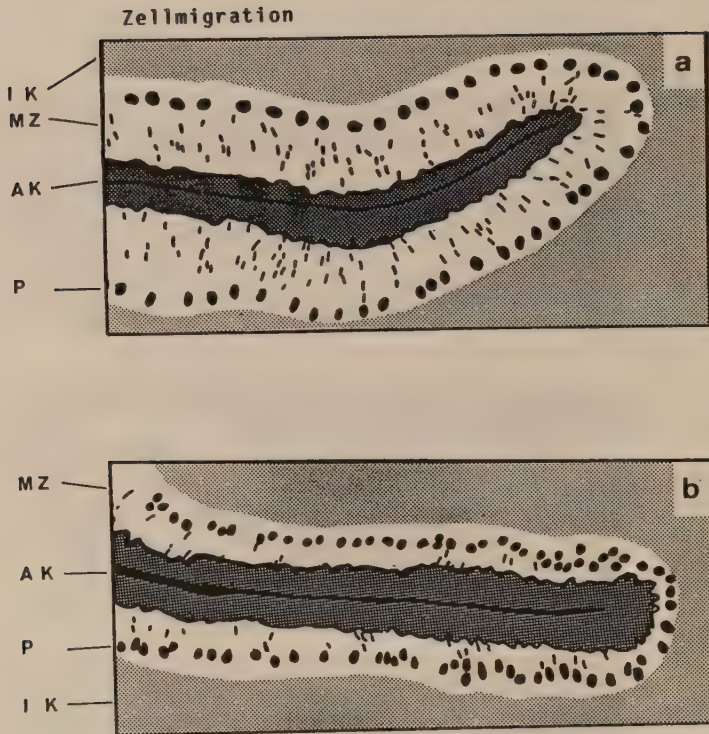


Abb. 7: 12. Tag, Fissura prima

a: KKST - die Proliferationsphase ist abgeschlossen, die Migration in vollem Gange

b: AA - stürmische Proliferation, beginnende Migration

AK = Äußere Körnerschicht, MZ = Migrierende Zelle,
P = Purkinjezelle, IK = Innere Körnerschicht

KG: 12,84 g

HG: 0,905 g



KG: 6,01 g

HG: 0,518 g



Abb. 8: 12. Tag, Fissura secunda, Vergrößerung 10/3,2

a: KKN0 - altersentsprechende Entwicklung

b: AA - schmalere Molekularschicht und
z.T. noch übereinanderliegende
Purkinjezellen

16. T A G

KG: 12,21 g
HG: 0,920 g



KG: 9,00 g
HG: 0,806 g



Abb. 9: 16. Tag, Nodulus, Vergrößerung 10/2

- a: KKST - deutliche Rindendifferenzierung, bis auf 1-2 Zellagen fast vollständig ausgewanderte äußere Körnerschicht
- b: AA - starke Retardierung. Äußere Körnerschicht breiter, Molekularschicht schmäler als bei der Kontrolle, Purkinjezellen z.T. noch übereinander

KG: 12,21 g
HG: 0,920 g



KG: 9,00 g
HG: 0,806 g



Abb. 10: 16. Tag, Fissura prima, Vergrößerung
10/3,2

- a: KKST - normale altersentsprechende
Entwicklung
- b: AA - Breitere äußere Körnerschicht,
schmalere Molekularschicht

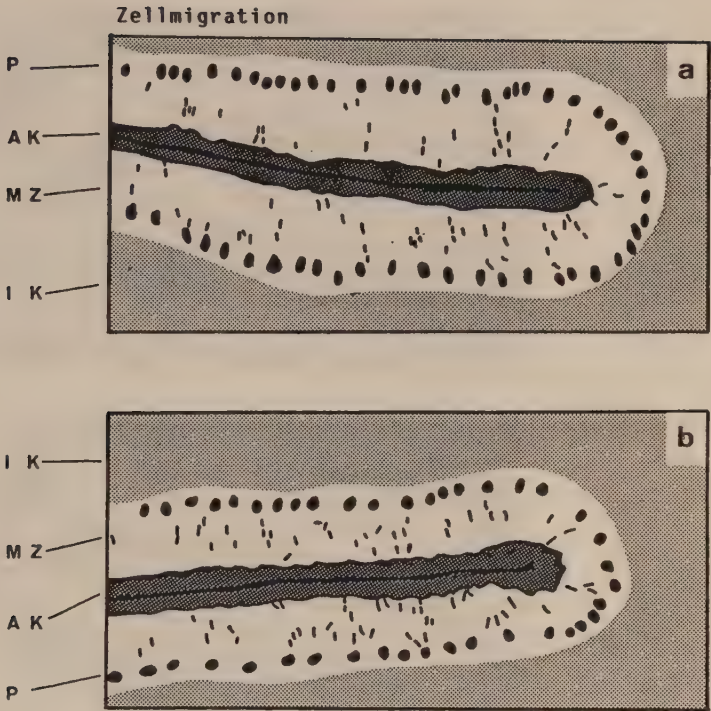


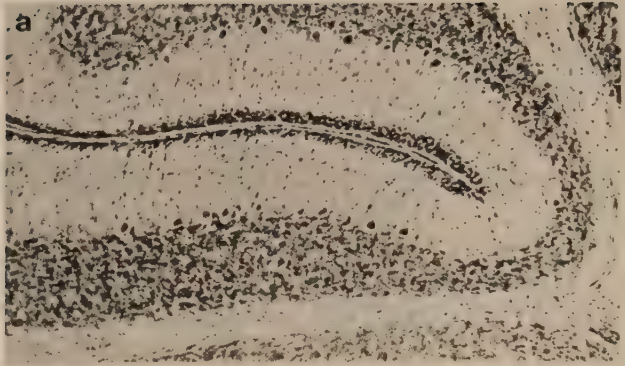
Abb. 11: 16. Tag, Fissura prima

- a: KKST - Zahl der migrierenden Zellen im Vergleich zum 12. Tag zurückgegangen
- b: AA - die Migrationsphase hat sich gegenüber dem 12. Tag gesteigert. Mehr migrierende Zellen als beim Kontrolltier.

AK = Äußere Körnerschicht, MZ= Migrierende Zellen, P = Purkinjezellen, IK = Innere Körnerschicht

KG: 12,21 g

HG: 0,920 g



KG: 9,00 g

HG: 0,806 g

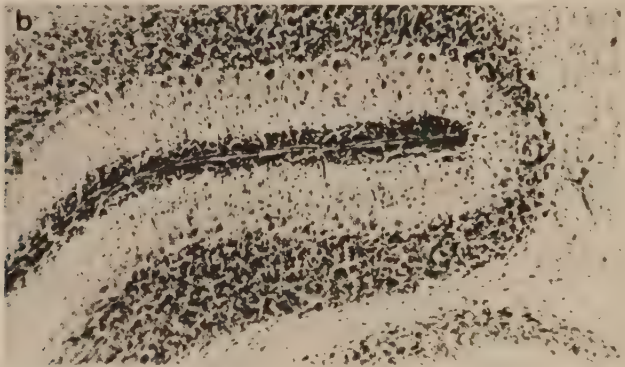
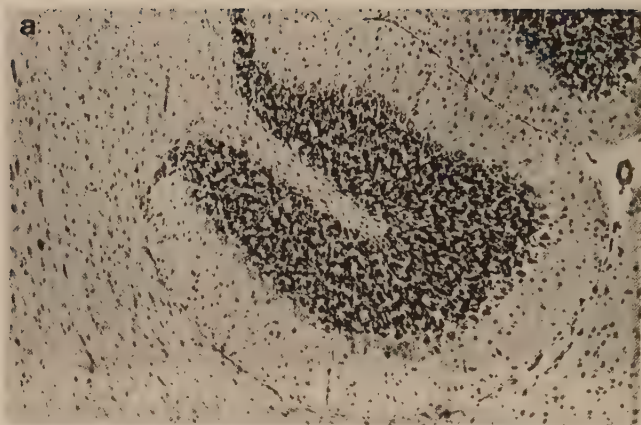


Abb. 12: 16. Tag, Fissura secunda, Vergrößerung 10/3,2

a: KKST - altersentsprechende Reifung

b: AA - Deutliche Retardierung

21. T A G



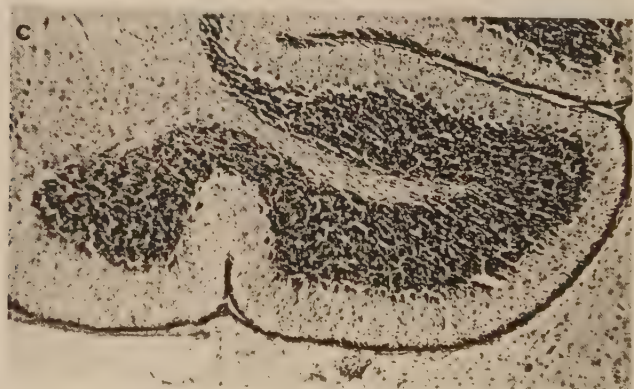
KG: 25,4 g

HG: 1,330 g



KG: 33,10 g

HG: 1,283 g



KG: 11,37 g

HG: 0,852 g

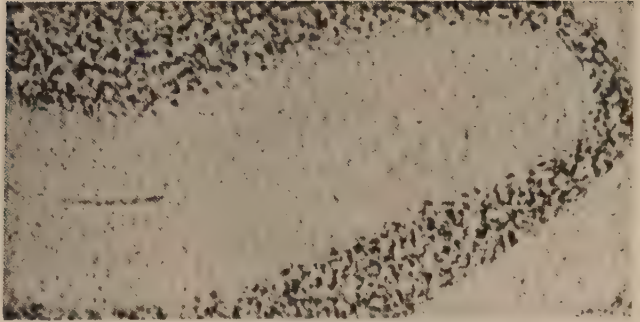
Abb.13: siehe Seite 65

Abb. 13: 21. Tag, Lingula, Vergrößerung 10/2,5

- a: KKNO - ausgereifte Kleinhirnrinde
- b: KKST - ausgereifte Kleinhirnrinde
- c: AA - Persistierende äußere Körnerschicht,
schmalere Molekularschicht. Retar-
dierte Kleinhirnentwicklung

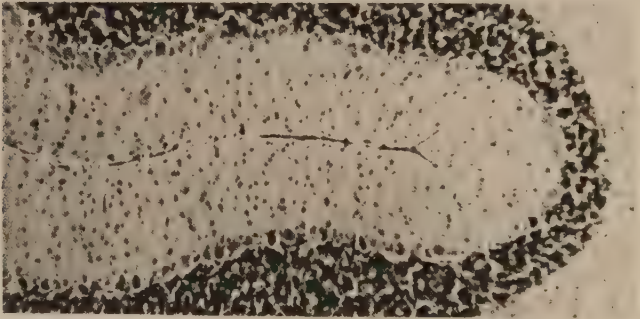
KG: 25,4 g

HG: 1,330 g



KG: 33,10 g

HG: 1,283 g



KG: 11,37 g

HG: 0,852 g

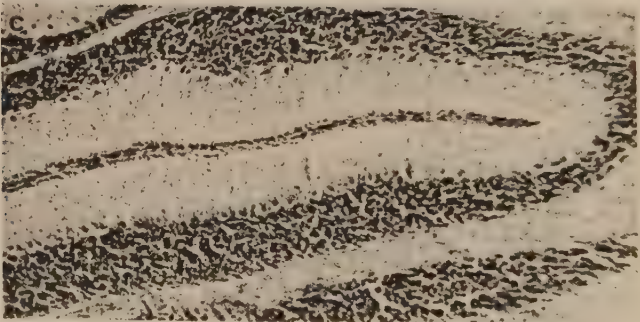


Abb. 14: 21. Tag, Fissura prima, Vergrößerung 10/2,5

- a: KKNO - bei beiden Kontrollen aus-
- b: KKST differenzierte Rinde
- c: AA - Wachstumsretardierung: per-
sistierende äußere Körner-
schicht, schmalere Molekular-
schicht

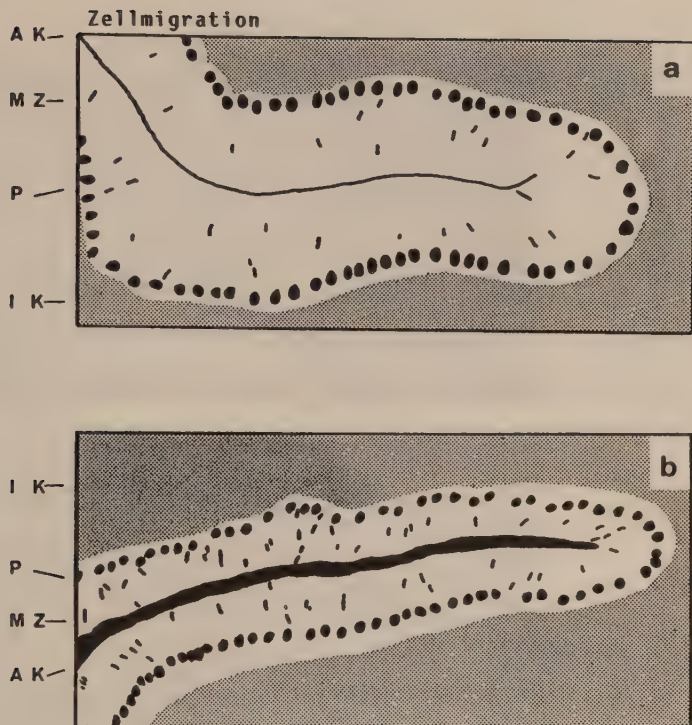


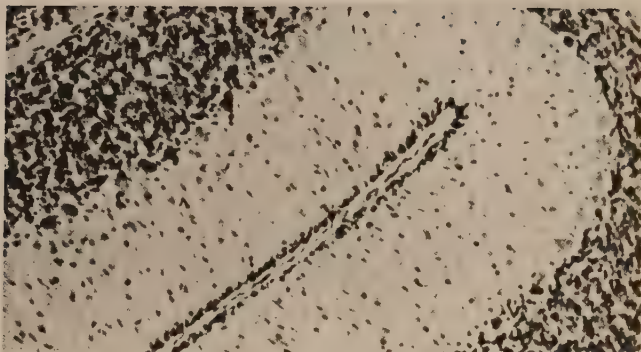
Abb. 15: 21. Tag, Fissura prima

a: KKST - die Migration der Körnerzellen
ist fast beendet

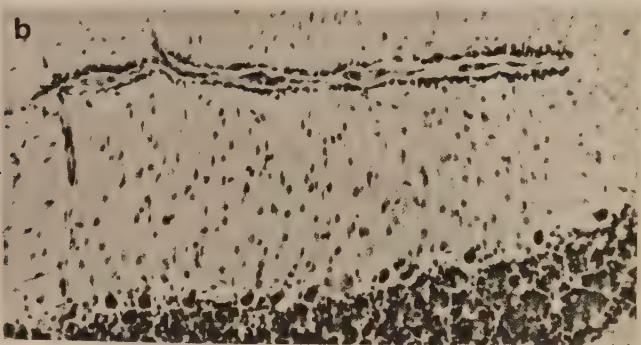
b: AA - Migration noch im Gange

AK = Äußere Körnerschicht, MZ = Migrierende
Zelle, P = Purkinjezelle, IK = Innere Körnerschicht

KG: 25,4 g
HG: 1,330 g



KG: 33,10 g
HG: 1,283 g



KG: 11,37 g
HG: 0,852 g

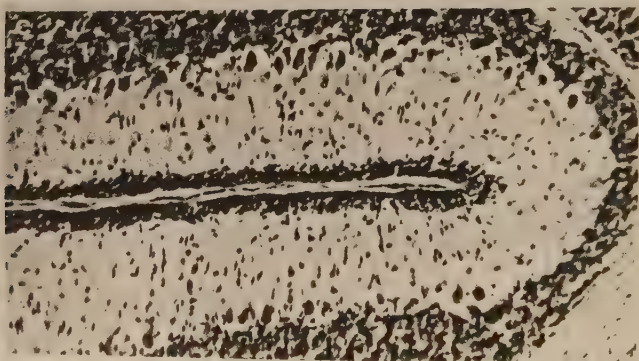


Abb. 16: 21. Tag, Fissura secunda, Vergrößerung 25/2

- a: KKN0 - bis auf 1-2 Zellagen fast voll-
- b: KKST - ständig ausgewanderte äußere
Körnerschicht
- c: AA - deutlich retardierte Rinde

5.3 Befunde der Gefrierschnitte

Die Befunde in den abgebildeten HE-Präparaten korrelieren mit den enzymhistochemischen Ergebnissen der Gefrierschnitte. Eine dünne äußere Körnerschicht im HE-Präparat entspricht wenig Aktivität im Gefrierschnitt, was beim direkten Vergleich zu sehen ist.

Reaktion der Purkinjezellen, ihrer Dendriten und der Molekularschicht

8. Tag

HE-Übersicht S. 73, Abb. 17a und b

Die Purkinjezellkörper der Kontrolljungtiere zeigen eine intensive NADH-Aktivität (Abb. 17c, Abb. 17e). Schlanke verzweigte Dendriten sind zu sehen, die in die Molekularschicht einsprossen (Abb. 17e).

Bei den Versuchsjungtieren sind die primären Dendriten noch nicht zu sehen, sondern AXONE, die in die innere Körnerschicht einsprossen (Abb. 17f). Die Zellkörper der Purkinjezellen reagieren wie bei den Kontrolltieren, die Purkinjezellreihe ist jedoch lückenhaft (Abb. 17d), die Zellkörper der Versuchstiere sind kleiner.

12. Tag

Bei den Kontrolljungtieren sind die sekundären Dendriten angefärbt, die eine dichte aktivitätsspeichernde Zone oberhalb der Purkinjezellen bilden. Die primären Dendriten sind nicht mehr zu sehen (Abb. 18a, Abb. 19a, Abb. 20c).

Dagegen zeigen sich bei den Versuchstieren plumpe unverzweigte primäre Dendriten, die in die Molekularschicht einstrahlen (Abb. 18b und c, Abb. 19d). Bei den stark dystrophen

Versuchstieren ist das Dendritenwachstum noch stärker verzögert (Abb. 18c). Die Purkinjezellreihe dieser Tiere hat breite Lücken (Abb. 19b).

16. Tag

HE-Übersicht S. 82, Abb. 20a und b

Die unteren 2/3 der Molekularschicht der Kontrolljungtiere zeigen jetzt diffuse Aktivität (Abb. 20c, 21a). Die einzelnen Dendriten sind nicht mehr zu sehen. Die Purkinjezellkörper sind nur noch schwach von der Umgebung abzugrenzen (Abb. 20c).

Bei den Versuchsjungtieren sind die sekundären Dendriten noch deutlich zu erkennen, was dem Befund der 12 Tage alten Kontrolltiere entspricht. Die Purkinjezellen liegen teilweise übereinander (Abb. 20d, 21b).

21. Tag

HE-Übersicht S. 86, Abb. 22a und b

Fast die gesamte Molekularschicht der Kontrolljungtiere zeigt diffuse Aktivität. Nur ein schmaler Saum an der Oberfläche ist noch etwas weniger angefärbt (Abb. 22c).

Bei den Versuchsjungtieren ist die Molekularschicht dagegen erst zu 2/3 angefärbt (Abb. 22d).

Entwicklung der äußeren und inneren Körnerschicht

Die äußere Körnerschicht der Kontroll- und Versuchstiere zeigt an allen Versuchstagen sehr schwache Aktivität (Tag 8: Abb. 17c und d, Tag 12: Abb. 19a und b, Tag 16: Abb. 20c und d, Tag 21: Abb. 22c und d).

Sie ist am 21. Tag bei den Kontrolltieren verschwunden, während sie bei den Versuchstieren noch als schmaler Saum zu erkennen ist.

Die innere Körnerschicht ist bei den Kontrolltieren am 8. Tag als schwach reagierende schmale Zone zu erkennen (Abb. 17c). Ihre Aktivität steigert sich bis zum 21. Tag, was sich besonders in der Darstellung der oxidativen Enzyme durch die Reaktion mit Succinatdehydrogenase zeigt (Abb. 21a).

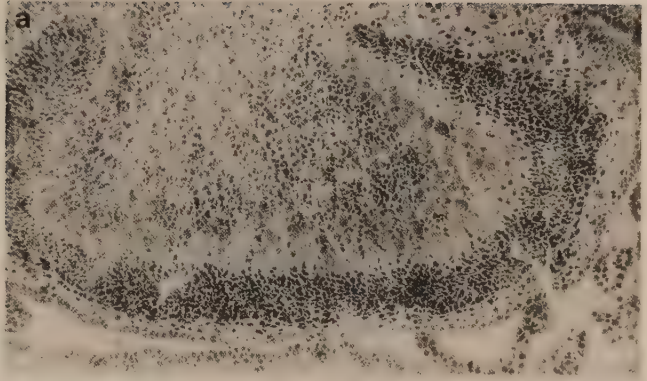
Am 21. Tag ist die innere Körnerschicht stark angefärbt (Abb. 22c).

Bei den Versuchsjungtieren ist die Aktivität der inneren Körnerschicht an allen Versuchstagen wesentlich schwächer (Abb. 17d, Abb. 19b, Abb. 20d, Abb. 22d).

Besonders deutlich wird dieser Befund am 16. Tag in der Reaktion mit Succinatdehydrogenase (Abb. 21a). Bei den Versuchstieren zeigt sich im Gegensatz zu den Kontrolltieren noch fast keine Aktivitätsspeicherung (Abb. 22b).

8. T A G

KG: 11,35 g
HG: 0,689 g



KG: 7,92 g
HG: 0,549 g



Abb. 17: 8. Tag, Nodulus, Vergrößerung 10/3,
HE-Färbung

a: KKST - Übersicht

b: AA - Übersicht

KG: 11,35 g

HG: 0,689 g



KG: 7,92 g

HG: 0,549 g

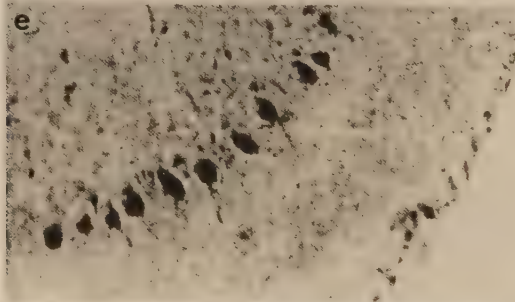
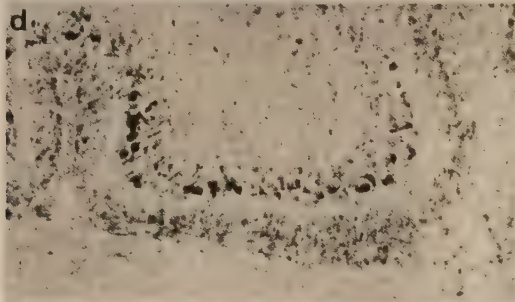


Abb. 17: siehe S. 75

Abb. 17: 8. Tag, Nodus, Vergrößerung 10/3,2, NADH-Reaktion

c: KKST - Intensiv reagierende Purkinjezellkörper, primäre Dendriten, die sich verzweigen. Schwach reagierende Reaktion der äußeren Körnerschicht, beginnende Aktivität der inneren Körnerschicht

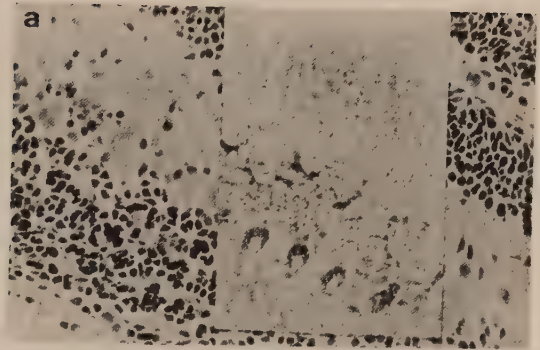
d: AA - Deutliche Reaktion der AXONE, die in die innere Körnerschicht einsprossen. Kein Dendritenwachstum!

e und f: Vergrößerung 25/3,2, NADH-Reaktion

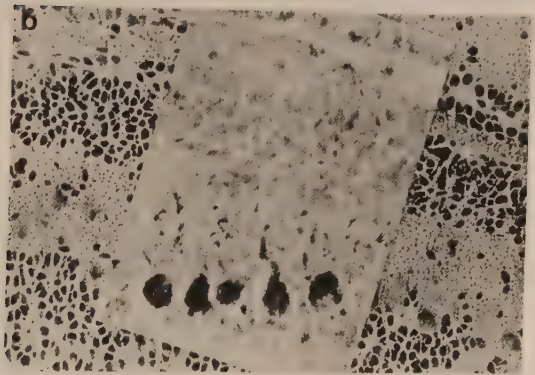
e: KKST - Deutlicher Unterschied zwischen

f: AA - Axon- und Dendritenreaktion bei Versuchs- und Kontrolltier

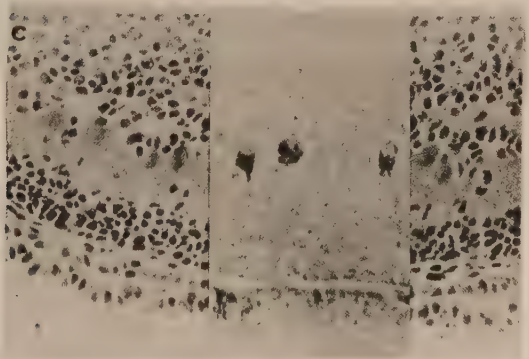
12. T A G



KG: 12,79 g
HG: 0,925 g



KG: 7,09 g
HG: 0,624 g



KG: 5,76 g
HG: 0,509 g

Abb. 18: siehe Seite 78

Abb. 18: 12. Tag, Fissura prima, Vergrößerung 25/3,2,
HE-Übersicht mit NADH-Detail

- a: KKNO - Aktivitätsspeicherung der distalen
Dendriten, Aussparung der Purkinje-
zellkerne
- b: AA - plumpe, nicht verzweigte primäre
Dendriten
- c: AA - stark dystrophes Tier, spärlich be-
ginnende Reaktion der primären Dendri-
ten, lückenhafte Purkinjezellschicht

KG: 12,79 g

HG: 0,915 g



KG: 5,76 g

HG: 0,509 g

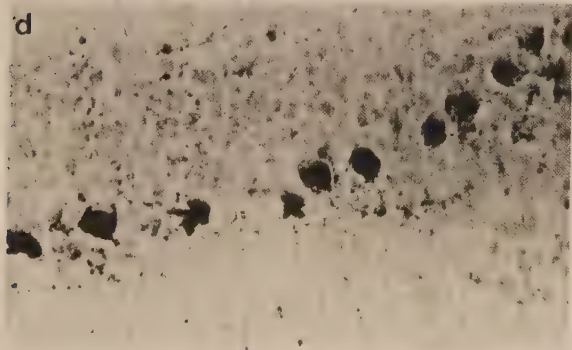
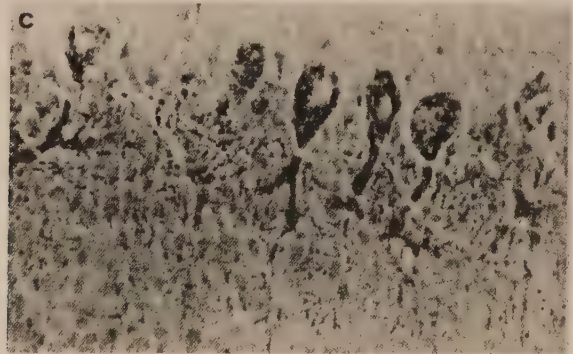
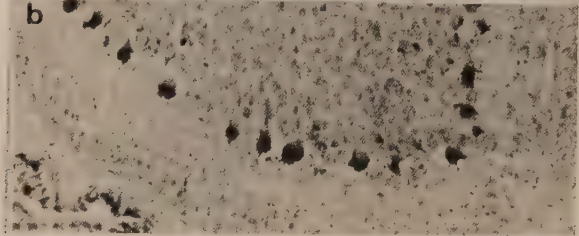


Abb. 19: siehe Seite 80

Abb. 19: 12. Tag, Lingula, Vergrößerung 10/3,2, NADH-Reaktion

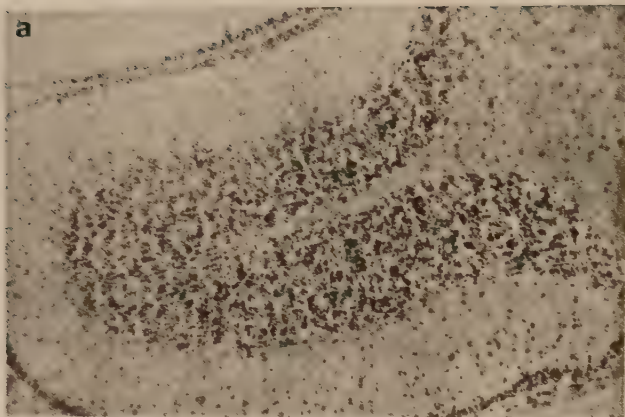
- a: KKNO - altersentsprechende Entwicklung
- b: AA - deutliche Entwicklungsverzögerung des Versuchstiers, lückenhafte Purkinjezellschicht, spärlich beginnende Reaktion der primären Dendriten

c und d: Vergrößerung 25/3,2, NADH-Reaktion

- c: KKNO - Detailaufnahmen
- d: AA

16. T A G

KG: 25,10 g
HG: 1,178 g



KG: 7,91 g
HG: 0,808 g

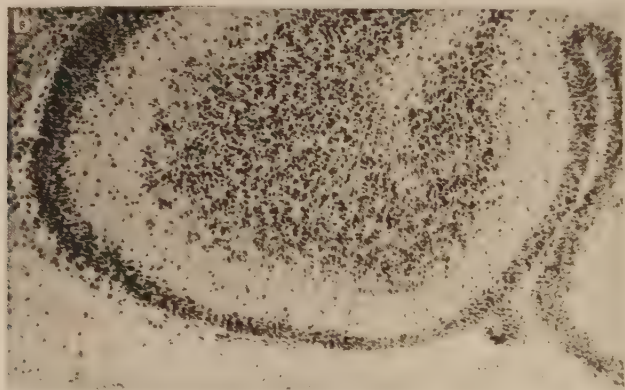


Abb. 20: 16. Tag, Nodulus, Vergrößerung 10/3,2,
HE-Reaktion

- a: KNO - Übersicht
- b: AA - Übersicht

KG: 25,10 g

HG: 1,178 g



KG: 7,91 g

HG: 0,808 g

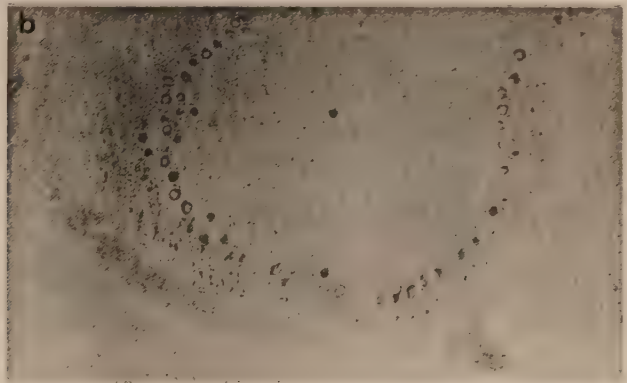
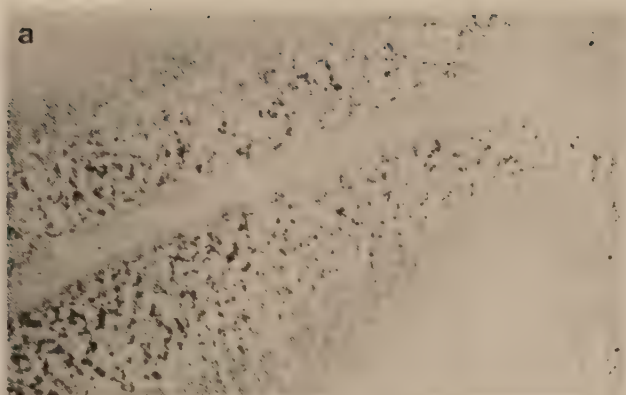


Abb. 20: 16. Tag, Nodulus, Vergrößerung 10/3,2, NADH-Reaktion

- c: KKNO - diffuse Aktivität in den unteren 2/3 der Molekularschicht, keine Dendriten mehr. Starke Aktivität in der inneren Körnerschicht.
- d: AA - Reaktion der distalen sekundären Dendriten noch zu sehen, schwache Aktivität in der inneren Körnerschicht

KG: 25,10 g
HG: 1,178 g



KG: 7,91 g
HG: 0,808 g

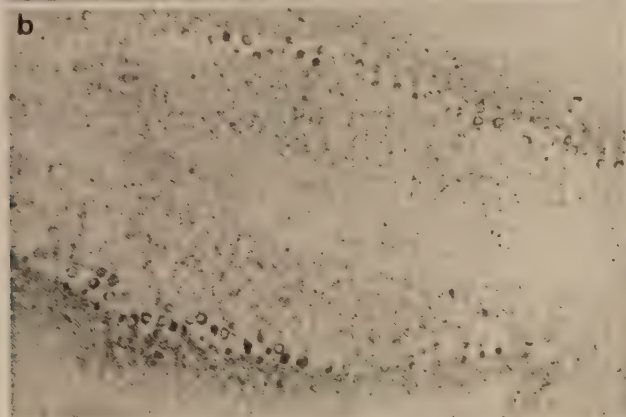
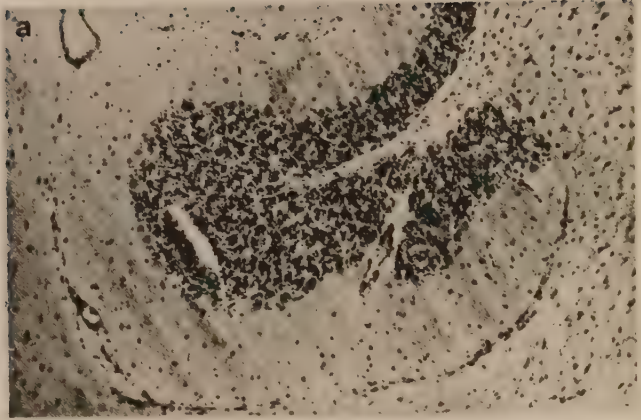


Abb. 21: 16. Tag, Fissura prima, Vergrößerung 10/3,2, Succinatdehydrogenasereaktion

- a: KKNO - Aktivitätssteigerung in der inneren Körnerschicht
- b: AA - weniger Aktivität in Molekular- und innerer Körnerschicht, deutliche Retardierung

21. T A G

KG: 26,2 g
HG: 1,230 g



KG: 13,87 g
HG: 1,024 g

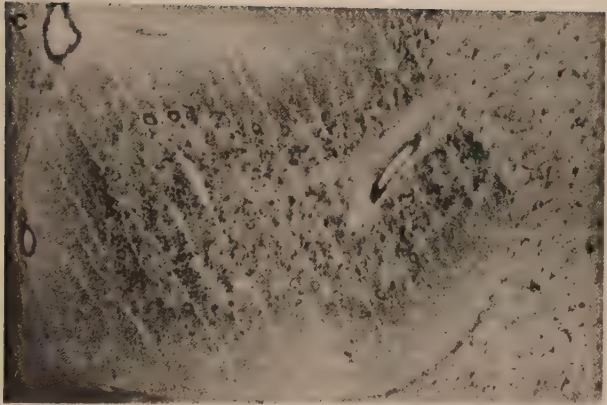


Abb. 22: 21. Tag, Nodulus, Vergrößerung 10/3,2,
HE-Reaktion

a: KKN0 - Übersicht

b: AA - Übersicht

KG: 26,2 g
HG: 1,230 g



KG: 13,87 g
HG: 1,024 g

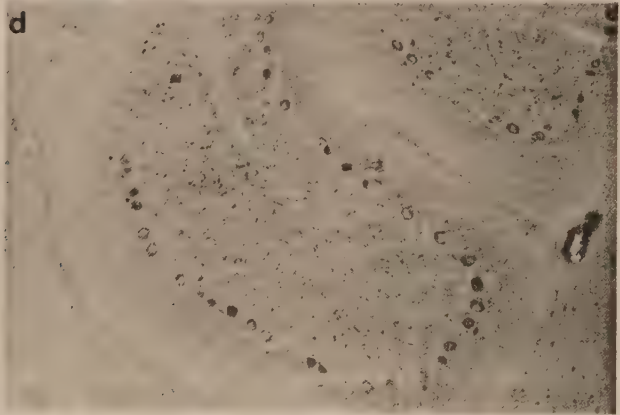


Abb. 22: 21. Tag, Nodus, Vergrößerung 10/3,2, NADH-Reaktion

- c: KNO - ausgereifte Kleinhirnrinde
- d: AA - erst 2/3 der Molekularschicht
angefärbt, weniger Aktivitäts-
speicherung in der inneren
Körnerschicht.

6. DISKUSSION

Unsere Ergebnisse zeigen den teratogenen Einfluß von Alkohol auf Embryo und Fetus, wobei wir den Begriff "teratogen" im Sinne von JONES UND CHERNOFF (1978) verstehen.

Sie schreiben, daß der teratogene Einfluß einer Substanz sich nicht nur in dem Auftreten von strukturellen Anomalien und Mißbildungen äußert. Nach neueren Berichten scheint das intrauterine Wachstumsdefizit ein sehr sensibler Indikator für eine teratogene Schädigung durch bestimmte Stoffe zu sein, da es bei Versuchen mit für den Menschen teratogenen Substanzen fast immer festgestellt wird (JONES UND CHERNOFF, 1978).

Der Alkohol, den wir unseren Versuchstieren während der Schwangerschaft anboten, verursacht eine intrauterine Hypotrophie. Sie zeigt sich in den niedrigeren Körper- und Hirngewichten, die im Vergleich zu den Kontrollen bei den Nachkommen der mit Alkohol behandelten Mütter bei der Geburt zu messen waren.

Bei den Jungtieren, denen wir über die Mütter Alkohol auch während der Stillzeit weitergaben, ist eine Verzögerung der Gewichts- und Hirnentwicklung festzustellen.

Unterschiede zur normalen Kleinhirnhistogenese sind erst in der Phase des schnellen, Wachstums, dem "growth spurt", zu beobachten, wo die Differenzierung des Kleinhirns stattfindet. Die Proliferations- und Migrationsphase der Kleinhirnrinde sind verzögert und die Differenzierung der Purkinjezellen und ihrer dendritischen Verzweigungen verlangsamt.

6.1 Interpretation der Ergebnisse der Paraffinschnitte

6.1.1 Alkohol und Mißbildungen

Im Gegensatz zu anderen Autoren können wir bei den von uns untersuchten Tieren keine Mißbildungen feststellen, die das Gehirn betreffen. Dabei ist allerdings zu berücksichtigen, daß wir uns bei unseren Untersuchungen auf das Kleinhirn beschränkt haben.

CHERNOFF fand 1975 in seinem Versuch zum tierexperimentellen fetalen Alkoholsyndrom bei den Feten alkoholisierter Mäusemütter unreife Hirnventrikel. Außerdem fehlten z.T. das Corpus callosum oder es waren Exencephalus oder Gastroschisis festzustellen.

CHERNOFF stellte einen Zusammenhang zwischen Blutalkoholspiegel und Art der Mißbildungen auf. Die Tiere, denen er eine Diät gegeben hatte, wo 15 % der Kalorien durch Alkohol ersetzt waren, zeigten die beschriebenen neuralen Anomalien und geringere fetale Gewichte als die Kontrollen. Kardiale Anomalien und Veränderungen der Augenlider waren bei den Tieren mit höherprozentiger Alkohollösung zu beobachten (35%) (CHERNOFF, 1975). In unseren Versuchen verabreichten wir den Tieren eine Lösung, bei der 33 % der Kalorien durch Alkohol ersetzt wurden. Wir konnten bei den Routineuntersuchungen keine der von CHERNOFF beschriebenen Mißbildungen finden, wobei wir über das Herz keine Aussagen machen können. Es wäre vorzustellen, daß die Tiere, die eventuell Mißbildungen gezeigt hätten, schon vor der Geburt gestorben und so von uns nicht untersucht worden sind. CHERNOFF hat in seinem Versuch eine erhöhte pränatale Sterblichkeit bei den Versuchstieren beobachtet.

Wir halten es jedoch für wichtiger, die cerebellare Histogenese zu betrachten, da sie für die mentale Retardierung der Kinder und die Ataxie aufschlußreicher als die Mißbildungsrate zu sein scheint.

6.1.2 Einfluß des Alkohols auf die Feinstruktur des Gehirns

Verschiedene Applikationsformen des Alkohols

Unsere Befunde der verzögerten Kleinhirnhistogenese stimmen mit anderen Untersuchungen überein. Sowohl VOLK (1977) wie auch BORGES UND LEWIS (1983) beschreiben in den von ihnen veröffentlichten Versuchen zum experimentellen fetalen Alkoholsyndrom eine persistierende äußere Körnerschicht in der Kleinhirnrinde bis zum 21. Tag, die unter anderem auf eine verzögerte Zellmigration der Körnerzellen zurückzuführen ist. Die Entwicklung der Purkinjezellen ist bei ihren Versuchstieren ebenfalls verzögert, wobei die Anzahl wie bei uns nicht verringert ist. VOLK beschrieb allerdings 1984 eine reduzierte Purkinjezellzahl bei seinen Versuchstieren.

Andere Autoren dagegen stellten fest, daß die Zahl der Purkinjezellen bei alkoholausgesetzten Tieren reduziert ist. BAUER-MOFFETT UND ALTMANN applizierten den Alkohol per Verdampfung. Sie ließen Rattenjungtiere vom 3. bis 20. Tag Alkohol inhalieren und erreichten bei den Tieren einen Blutalkoholspiegel von 239 mg/100 ml. Nach zwei Behandlungstagen waren weniger Purkinjezellen im Kleinhirn zu finden (BAUER-MOFFETT UND ALTMAN, 1977).

PHILIPPS UND CRAGG setzten nicht nur die Jungtiere postnatal, sondern auch deren Mütter während der letzten zwei Schwangerschaftswochen dem Alkoholdampf aus (PHILIPPS AND CRAGG, 1982a). Die Jungtiere zeigten eine Reduzierung des Hirngewichts und wesentlich weniger Purkinjezellen als die Kontrolltiere.

Diese Methode, Alkohol den Tieren anzubieten, halten wir für unphysiologisch. Die Kinder, die ein fetales Alkoholsyndrom haben, bekommen schon während der Schwangerschaft und nicht erst zwei Tage nach Geburt über die Mutter Alkohol zugeführt. Sie erhalten die schädliche Noxe über den mütterlichen Kreislauf - über die Plazenta und - seltener - die

Muttermilch - und nicht per Verdampfung. Daher entspricht unser Versuchsansatz sicher eher den Verhältnissen, denen die Kinder ausgesetzt sind. Eine absolute Schädigung der Genese und Migration der Purkinjezellen in Form von Zellnekrosen oder aber eine Mitosehemmung können wir nicht feststellen. Eine mögliche Erklärung für die von BAUER-MOFFETT und PHILIPPS beobachtete Zellschädigung ist der hohe Blutalkoholspiegel, der bei den Jungtieren erreicht wurde und auf den die Zellen nicht mehr anders reagieren können als mit Nekrose (2,4 % im Vergleich zu unserem Versuch, wo maximal 1,3 % erreicht werden). Es könnte sein, daß die Menge der schädigenden Noxe bei uns nicht ausgereicht hat, um eine derartige Zerstörung der Struktur zu verursachen. Beide Autoren können - im Gegensatz zu uns - keine Aussage über die Entwicklung der Histogenese machen.

6.1.3 Soll Alkohol vor oder nach der Geburt gegeben werden?

Der Einfluß von Alkohol auf die vulnerablen Wachstumsphasen des Gehirns

Wir haben Alkohol prä- und postnatal gegeben. Unsere Ergebnisse bestätigen, daß Alkohol einen direkten toxischen Einfluß in der Embryofetalzeit hat. Da Äthanol embryonal nur schwer metabolisiert werden kann - wie in dem Kapitel 1.3 beschrieben -, sind die verringerten Körper- und Hirngewichte unserer Versuchstiere bei Geburt auf seine teratogene pränatale Wirkung zurückzuführen. Dafür spricht auch, daß Jungtiere, die nach der Geburt zu einer Kontrollamme gesetzt werden, sich gewichtsmäßig normal entwickeln.

Ziel unseres Versuches ist es unter anderem, eine Erklärung für die Retardierung der alkoholgeschädigten Kinder zu finden und diese Verzögerung der Entwicklung im Tierversuch nachzuweisen.

Wir sind davon ausgegangen, daß wir die Noxe Alkohol zu dem

Zeitpunkt zufügen müssen, an dem das Gehirn am empfindlichsten auf fremde Einflüsse reagiert. Diese Phasen sind beim Menschen und dem Versuchstier Ratte unterschiedlich.

DOBBING beschreibt, daß der Zeitraum, in dem der Wachstumsspurt des Gehirns einsetzt, am verletzlichsten ist. Wird die Entwicklung hier gestört, so kann es nach seiner Meinung zu irreversiblen Schäden kommen. Beim Menschen entwickelt sich das Gehirn in drei Phasen (DOBBING, 1976): Während der ersten drei Schwangerschaftsmonate erreicht es annähernd seine äußere Form. Cirka im vierten bis fünften Schwangerschaftsmonat beginnt die Teilung der Zellen, die später die Nervenzellen und Gliazellen darstellen. Am Ende dieser Phase sind alle Zellen vorhanden, die das Gehirn darstellen, die Differenzierung ist allerdings noch lange nicht abgeschlossen. Es folgen dann eine intensive Multiplikation von Gliazellen und die Myelinisation sowie die Arborisation der Purkinjezellendriten. Beim Menschen findet diese Entwicklung vor und nach der Geburt statt, mit punctum maximum am 1. Lebenstag. Diese Phase stellt den Wachstumsspurt dar, den sogenannten "growth spurt" (DOBBING, 1968). Noxen, die in dieser Phase einen schädigenden Einfluß haben, beeinflussen nach DOBBINGS Meinung nicht mehr die Zellzahl, sondern ihre Differenzierung.

Das Gehirn der Ratte hat bei Geburt einen Entwicklungsstand, der dem des Menschen im fünften Monat der Fetalzeit entspricht. Der "growth spurt" setzt zwar kurz vor der Geburt ein, findet aber überwiegend postnatal statt. Die Myelinisation setzt am 10. Tag post partum ein (DOBBING, 1968, 1976).

GOTTLIEB ET AL. stellten in ihrem Versuch zu den verschiedenen Wachstumsphasen des Rattenhirns fest, daß vom 0.-6.Tag, 8.-12. und 17.-23. Tag postnatal das Gehirn schnell, an den dazwischen liegenden Tagen langsam wächst. In den langsamen Wachstumsphasen ist jeweils am Ende eine Erhöhung der RNA-, DNA-, Protein- und Myelinsynthese zu beobachten (GOTTLIEB, KEYDAR UND EPSTEIN, 1977).

Diese Angaben bestätigen unseren Versuchsansatz. Bei unseren Versuchstieren waren bis zum 8. Tag post partum keine Unterschiede in der Struktur des Kleinhirns im Vergleich zu den Kontrollen zu sehen. Erst durch die postnatale Weitergabe des Alkohols bis zum 21. Tag konnten wir die vulnerablen Phasen und den Wachstumsspurt der Ratte erfassen und ab dem 8. Tag Verzögerungen der Histogenese erkennen. Wie von DOBBING (1968, 1976) vermutet, finden wir keine Reduzierung der Zellzahl. Schließen wir von dem Tierexperiment auf den Menschen, so bedeutet dieses Ergebnis, daß der Alkohol im letzten Trimester der Schwangerschaft sowie zu und kurz nach der Geburt - "im growth spurt" - die Retardierung festlegen könnte.

Letztendlich können wir durch unseren Versuch nicht klären, warum die mentale Retardierung der Kinder das ganze Leben lang anhält. Es wäre vorstellbar, daß bei den von uns untersuchten Tieren an einem späteren Lebenstag der Entwicklungsstand erreicht wird, den die Kontrollen am 21. Tag haben. Es resultieren dann zwei Schlußfolgerungen: Entweder wird der Stoffwechselumsatz bzw. die Differenzierung der Zellen durch die verzögerte Histogenese so beeinträchtigt, daß für das ganze Leben ein Schaden bleibt, der in den Paraffinschnitten der Rinde nicht zu sehen ist. Oder es ist eine Struktur betroffen, die wir in dieser Arbeit nicht untersucht haben - zum Beispiel die Synapsen oder die Arborisation der Dendritenbäume. Dies ist in weiteren Versuchen zu klären.

6.1.4 Sind unsere Ergebnisse wirklich auf den schädigenden Einfluß von Alkohol zurückzuführen oder hat vielleicht ein anderer Faktor die Entwicklung der Tiere beeinflusst?

Diskussion der Malnutrition

Es ist bekannt, daß Alkohol die gastrointestinale Absorption und die Metabolisierung von Nährstoffen beeinträchtigt (OLSON, 1973). Daraus ergibt sich, daß während der Schwangerschaft die Kinder von chronischen Alkoholikerinnen nicht nur unter dem Einfluß des Alkohols leiden, sondern auch noch einer nutritiven Mangelsituation ausgeliefert sind. Denkbar wäre, daß dieser Mangel auch in der Muttermilchvorliegt oder daß Alkohol - zumindest bei den Versuchstieren - das Stillverhalten so beeinflusst, daß die Tiere zu wenig ernährt werden. Es ergibt sich die Frage, wie man ausschließt, daß die von uns beobachteten Schäden allein auf die Wirkung des Alkohols und nicht auf Unterernährung zurückzuführen sind.

Eine direkte Mangelsituation hat bei unseren Versuchstieren sicher nicht vorgelegen. Die isokalorische Ernährung der Kontroll- und Versuchstiere gewährleistet die gleiche Menge von Vitaminen, Fett, Kohlenhydraten, Eiweiß und Spurenelementen. Die von uns verwendete Diät "Stardit^R" stellt ein vollwertiges Nahrungsmittel dar, was sich darin zeigt, daß die Normal- und Starditkontrollen in den histologischen Präparaten die gleiche Entwicklung zeigen. Unterernährung ist also sicher nicht der primäre Schädigungsfaktor bei unserem Modell.

Die unterschiedlichen Körper- und Hirngewichte unserer Versuchstiere bei Geburt wurden gemessen, obwohl die Mütter beider Gruppen die gleiche Ausgangslage während der gesamten Schwangerschaft zeigen. Dies spricht für die toxische Wirkung des Alkohols und gegen eine direkte Mangelsituation während der Schwangerschaft. Es wäre zu erwarten, daß auch die Mütter eine Gewichtsreduzierung zeigen müßten, wenn Unterernährung vorliegt.

Betrachten wir die Entwicklung des relativen Hirngewichts - der Relation von Hirn- und Körpergewicht - können wir nicht ausschließen, daß eine metabolisch bedingte indirekte Mangelsituation der mütterlichen Versuchstiere die Entwicklung der Jungtiere beeinflußt hat. Insgesamt ist der Quotient an allen Tagen bei den Versuchstieren nach Geburt ungünstiger als bei den Kontrolltieren. Am 1. Lebenstag liegt die Korrelation zugunsten des Körpers, das Gehirn ist im Vergleich zum Körper relativ kleiner als bei den Kontrolltieren. Dies bestätigt den pränatalen Einfluß des Alkohols. An den folgenden Versuchstagen kehrt sich das Verhältnis jedoch um, so daß das Gehirn im Verhältnis zum Körper relativ größer ist. Dieses Ergebnis spricht für Malnutrition, wobei das Gehirn vom Körper am längsten vor der Schädigung geschützt wird (Auszug aus den Ergebnissen der Arbeit von Jörg Schweigler).

Mangelernährung kann die Entwicklung des Gehirns wesentlich beeinflussen. Verschiedene Autoren geben verminderte Körper- und Hirngewichte bei Geburt sowie in der Postnatalzeit bei Jungtieren an, deren Mütter unterernährt wurden (CULLEY/LINEBERGER, 1968, ALTMAN UND DAS, 1971, DOBBING UND MITARBEITER, 1971, McCONNELL/BERRY, 1978, COLMENARES ET AL., 1979, WITTSTRUCK, 1979). Ob die Tiere dieses Defizit aufholen können, wenn sie wieder normal ernährt werden, wird unterschiedlich angegeben (McCONNELL/BERRY, 1978, COLMANARES, 1979).

DOBBING weist in seinen Untersuchungen darauf hin, daß es von entscheidender Bedeutung ist, ob die Mangelsituation im "growth spurt" vorliegt. Ist dies der Fall, so kann nach seinen Ergebnissen weder das Gehirn noch der übrige Organismus den Entwicklungsrückstand aufholen (DOBBING, 1976).

Es existieren zahlreiche Untersuchungen über die Zellzusammensetzung und Histogenese des Kleinhirns bei unterernährten Ratten, die annähernd die gleichen Ergebnisse zeigen wie bei unseren Versuchstieren.

McCONNELL UND BERRY fanden bei vom 1. bis 30. Lebenstag unterernährten Ratten eine schmalere Molekularschicht im

Kleinhirn als bei den Kontrolltieren (McCONNEL/BERRY, 1978). Dies zeigen auch unsere Alkoholversuchstiere.

Mehrere Autoren beschreiben, daß die von ihnen während der Schwangerschaft und Stillzeit unterernährten Tiere eine verzögerte Histogenese des Kleinhirns zeigen (BARNES AND ALTMAN, 1973, LEWIS ET AL., 1975, GOPINATH ET AL., 1976).

Allerdings wird dabei zum Teil eine reduzierte Zellzahl des Kleinhirns angegeben (BARNES AND ALTMAN, 1973, LEWIS ET AL., 1975), was bei uns nicht der Fall war. Man kann im Vergleich zu diesen Untersuchungen sagen, daß Alkohol die Proliferation und Differenzierung der Kleinhirnzellen zwar verlangsamt, nicht jedoch zu Zellnekrosen führt. Hierin liegt der Unterschied zu den beiden genannten Arbeiten zur Unterernährung. Allerdings hat GIUFFREDA (1977) gleiches auch für die Unterernährung festgestellt: Retardierung aller Hirnzellen.

SIMA UND PERSSON (1975) geben eine Erklärung dafür, daß die Molekularschicht bei den unterernährten Tieren schmaler als bei den Kontrollen ist: Die Dendritenbäume der Purkinjezellen wachsen verzögert aus. Die Länge dieser Dendriten bestimmt die Breite der Molekularschicht. Dies ist auch bei unseren Alkoholversuchstieren in den Gefrierschnitten zu sehen.

Interessant ist das Versuchsergebnis von PATEL ET AL. (1973), die Rattenmütter vom 6. Tag der Schwangerschaft unterernährt haben und bei den Feten ein normales Wachstum festgestellt haben. Unsere Versuchstiere hatten schon zu Geburt geringere Gewichte, was im Vergleich zu den von PATEL beschriebenen Effekten der Unterernährung eindeutig auf Alkohol zurückzuführen sein muß.

Betrachtet man die Versuche, die verzögerte Kleinhirnentwicklung bei Unterernährung und Alkohol zu erklären, so wird deutlich, daß die Reaktion auf beide Noxen so ähnlich sein muß. Bei den unterernährten Rattenjungtieren ist der DNA-

Gehalt der Zellen im Kleinhirn reduziert (WINICK, 1969, NEVILLE AND CHASE, 1971, PATEL ET AL., 1973). Die DNA-Synthese ist am 21. Tag post partum noch in vollem Gang, die Zellcyclen sind ab dem 12. Lebenstag verlängert (LEWIS ET AL., 1975). Dies erklärt, daß sich die Kleinhirnrinde viel langsamer entwickeln muß.

BROWN (1978) stellte auch bei Alkohol ausgesetzten Embryonen verminderten DNA- und Proteingehalt fest, RAWAT (1975) beobachtete ebenfalls nach chronischer Alkoholzufuhr verminderten DNA-, RNA-Gehalt der Zellen und eine reduzierte Proteinsynthese. DNA-Synthese und Mitoserate beeinflussen entscheidend die Entwicklung der Kleinhirnrinde.

Aus der Diskussion über den Einfluß der Unterernährung ergibt sich für uns folgende Schlußfolgerung in bezug auf unseren Versuch: Wir können bei derartig ähnlichen histologischen Ergebnissen nicht ausschließen, daß Malnutrition vorgelegen hat. Wir glauben jedoch nicht, daß die Schäden direkt durch sie hervorgerufen worden sind, sondern wenn, dann indirekt im Zusammenhang mit Alkohol. Es wäre jedoch auch möglich, daß das Gehirn in der Phase des schnellen Wachstums keine andere Möglichkeit hat, auf Noxen zu reagieren, wie in den zur Unterernährung und dem FAS erschienenen Untersuchungen beschrieben. Es reagiert vielleicht in derselben Form auf verschiedene Noxen. Endgültig klären läßt sich diese Frage erst, wenn ein Modell entworfen wird, das absolut frei von Unterernährung ist.

6.1.5 Alkohol und der Mangel an Schilddrüsenhormon

Die an unseren Tieren erhobenen Befunde zur Histogenese des Kleinhirnwurms weisen außer zur Unterernährung auch Parallelen zu Differenzierungsstörungen bei Thyroxin (T_4)-Mangel auf (LEGRAND, 1967, REBIÈRE/LEGRAND, 1972). KORNGUTH ET AL. stellen mit ihren Untersuchungen einen Zusammenhang zwischen reduziertem Thyroxinspiegel und dem fetalen Alkoholsyndrom her (KORNGUTH ET AL., 1979). Sie weisen nach, daß beim

fetalen Alkoholsyndrom der T4-Spiegel in den ersten zwei Wochen verringert ist. Sie führen die beobachtete Verzögerung der cerebellaren Histogenese auf den T4-Mangel zurück.

Wir konnten bei unseren Versuchstieren ebenfalls einen Trijodthyronin(T3)- und Thyroxin(T4)-Mangel feststellen (genaue Ergebnisse sind der Arbeit von Jörg Schweigler zu entnehmen). Die ähnlichen Ergebnisse werfen die gleiche Frage wie im Zusammenhang mit der Unterernährung auf. Möglich ist, daß das Gehirn zusammen von Alkohol und dem Mangel an Schilddrüsenhormon in seiner Differenzierung gehemmt wird, wobei der pathogenetische Weg mit Hilfe unseres Versuches nicht geklärt werden kann. Das hieße, daß die von uns beobachtete Schädigung ein Produkt mehrerer Einzelfaktoren ist. Wir glauben jedoch nicht, daß unsere Befunde allein auf den T3- und T4-Mangel zurückzuführen sind, da sich ja die teratogene Wirkung des Alkohols in unserem Versuch bestätigt. Betrachtet man die Kinder, die ein fetales Alkoholsyndrom haben, so fehlen eine Reihe von Symptomen, die sich bei hypothyreoten Kindern zeigen.

Um den Einfluß des Schilddrüsenhormons auf die Kinder von Alkoholikerinnen zu klären, müßten noch genauere Untersuchungen folgen.

6.1.6 Schädigt Alkohol oder sein direktes Abbauprodukt Azetaldehyd die Rattenembryos und -feten?

S.C. PHILIPPS wählte 1982 für seinen Versuch zum fetalern Alkoholsyndrom ein Modell, in dem er die Ergebnisse auf den schädigenden Einfluß von Azetaldehyd zurückführen konnte. Er setzte schwangere Ratten Alkoholdampf aus und blockierte den Abbau des Azetaldehyd durch die Injektion von Disulfiram (PHILIPPS UND CRAGG, 1982). Die Nachkommen dieser Ratten zeigten die gleichen Ergebnisse wie die nur dem Alkoholdampf ohne Disulfiram ausgesetzten Ratten: Die Anzahl der Purkinjezellen war stark vermindert, die Hirngewichte waren redu-

ziert. Wir halten dieses Modell jedoch für unphysiologisch - wie schon diskutiert - und stellen so keinen direkten Vergleich zu unserem Versuch auf.

O'SHEA UND KAUFMANN (1979) injizierten schwangeren Mäusemüttern Azetaldehyd direkt und fanden bei den Feten mehr Mißbildungen, und eine verzögerte fetale Entwicklung.

Die Frage, ob Azetaldehyd oder Äthanol schädigt, erscheint uns für unseren Versuch - also für das Finden eines neuropathologischen Äquivalents im Tierexperiment für die physische und mentale Retardierung der Kinder mit FAS - nutzlos, da bisher in den beschriebenen Tierversuchen keine grundverschiedenen Ergebnisse zu den reinen Äthanolversuchen gefunden wurden. Sie erscheint aber interessant, wenn man eine Erklärung dafür sucht, daß Alkoholikerinnen sowohl kranke wie gesunde Kinder gebären. VEGHELYI ET AL. (1978) stellten einen Zusammenhang zwischen der Ausprägung des FAS und hohen mütterlichen Azetaldehydspiegeln auf. SIPPEL UND KESÄNIEMI (1975) zeigten dagegen in ihren Versuchen, daß in der Placenta eine genügend hohe Azetaldehyddehydrogenaseaktivität vorliegt, so daß das über den mütterlichen Kreislauf erhaltene Azetaldehyd abgebaut werden kann. O'SHEA UND KAUFMANN (1979) brauchten hohe Konzentrationen von Azetaldehyd, um die oben beschriebenen Schäden zu erzielen. Es wäre möglich, daß bei den geschädigten Tieren bzw. bei den Müttern die Azetaldehyddehydrogenaseaktivität entweder von Geburt an oder durch die Wirkung des chronischen Alkoholismus reduziert ist und dadurch der Fetus ungeschützt dem Abbauprodukt des Äthanol ausgesetzt ist. Das Azetaldehyd kann nicht mehr abgebaut werden. Bei den Alkoholikerinnen, die gesunde Kinder gebären, wäre dieser Mangel dann nicht vorhanden.

Unser Versuchsmodell vermag die anfangs gestellte Frage nicht zu klären, weil wir bei der Planung unseres Experiments diese Frage nicht in den Mittelpunkt gestellt haben.

6.2 Diskussion der Ergebnisse der enzymhistochemischen Untersuchungen

Die Ausreifung der oxidativen Enzyme in den Zellen der Kleinhirnrinde ist bei den Versuchstieren stark verzögert. Besonders auffällig ist die späte Arborisation der Purkinjezellendendriten.

NADH und Succinodehydrogenase sind eng mit der Entwicklung der Mitochondrien verbunden (WOODWARD, 1969). NADH hatte eine wichtige Funktion der Atmungskette, die in den Mitochondrien lokalisiert ist, und damit auch im Energieumsatz der Zelle. Sind die Enzyme nicht durch Anfärbung in den GEFrierschnitten zu sehen, so bedeutet dies, daß der metabolische Weg, zu dem das Enzym gebraucht wird, in der Zelle nicht abläuft (ADAMS, 1965). Es kann aber auch bedeuten, daß ein Mangel an Mitochondrien vorliegt: Entweder liegen gar keine Mitochondrien vor, so daß keine Färbung auftritt, oder es sind weniger als normal vorhanden, so daß die Färbung geringer ist.

PILSTRÖM UND KIESSLING (1967) fanden keine verringerte Mitochondrienfunktion bei alkoholisierten Rattenfeteten. Wir müssen jedoch nach unseren Ergebnissen vermuten, daß sich die Mitochondrien im Kleinhirn unserer Versuchstiere langsamer entwickeln. Damit liegt in der von uns beobachteten Periode des Wachstumspurts ein geringerer Energieumsatz der Zellen vor, der die in den Paraffinschnitten dargestellte Verzögerung der Histogenese bewirken könnte. Ob weniger Mitochondrien vorhanden sind oder deren Funktion nur eingeschränkt ist, können wir nicht endgültig sagen. Nach den Ergebnissen der Paraffinschnitte ist jedoch letzteres zu vermuten, da wir keine Zellnekrosen gefunden haben.

Für die geschädigten Kinder würde dieses Ergebnis bedeuten, daß sie in einer sehr wichtigen Entwicklungsphase des Gehirns zu wenig Energie haben, um sich genauso wie nicht durch Alkohol geschädigte Kinder entwickeln zu können. Dies könnte eine Ursache für die mentale Retardierung sein, wobei vorstellbar wäre, daß die Mitochondrien diesen verlangsamten Energieumsatz nicht aufholen können, d.h. eine normale Zell-

aktivität nicht zu erreichen wäre.

Genau wie in der Diskussion der Ergebnisse der Paraffinschnitte können wir den Einfluß einer sekundär bedingten Malnutrition nicht eindeutig ausschließen. PERSSON UND SIMA (1975) untersuchten die cerebellare Entwicklung bei Ratten, die prä- und postnatal unterernährt wurden. Sie fanden die gleichen Ergebnisse wie bei unseren Tieren: Die Entwicklung des Dendritenbaums war deutlich verzögert. Allerdings stellten sie keine schwächere Anfärbung der äußeren und inneren Körnerschicht fest, so daß die verzögerte Migration doch mehr durch den Alkohol bedingt sein könnte. Insgesamt gesehen, sind in der Literatur jedoch wesentlich weniger Versuche über den Zusammenhang von Alkoholembryopathie und Änderungen der Enzymhistochemie zu finden, als Untersuchungen zur Histogenese, dargestellt in Paraffinschnittpräparaten. Wir glauben, daß dieser Aspekt jedoch weiterverfolgt werden sollte, da er wichtige Ansätze zur Aufklärung der Pathogenese bieten könnte.

6.3 Schlußbemerkung zur Diskussion

Vergleichen wir zum Schluß die Ergebnisse unseres Tierexperiments mit dem humanen fetalen Alkoholsyndrom, so ist es uns gelungen, wesentliche Symptome zu reproduzieren.

Der Mikrozephalus ist nach unseren Befunden auf eine pränatale Schädigung durch Alkohol zurückzuführen, da die Versuchstiere signifikant geringere Hirngewichte bei Geburt zeigen. Die verzögerte cerebrale Reifung führen wir auf eine diffuse Hirnschädigung zurück, die durch eine verzögerte postnatale cerebellare Differenzierung und einen geringeren Energieumsatz im growth spurt bedingt ist.

Auch die unterschiedlich schwere Ausprägung des Syndroms können wir bei den Versuchstieren nachvollziehen: Es gibt sowohl völlig normal entwickelte Tiere wie dystrophe und stark dystrophe Tiere, deren Histogenese besonders verzögert ist und bei denen eine Proliferationsphase kaum zu beobach-

ten ist. Auch bei dem humanen Alkoholsyndrom gibt es schwerstgeschädigte Kinder, die gesunde Geschwister haben, obwohl die Mutter während der Schwangerschaft gleichviel getrunken hat. Die Frage nach der Ursache dieses Phänomens können wir nur hypothetisch klären.

Die Ähnlichkeit unserer Befunde mit denen unterernährter und hypothyreoter Tiere könnte bedeuten, daß Alkohol nicht die alleinige Ursache für die beobachteten Symptome ist, sondern zusammen mit anderen Stoffwechselveränderungen oder über die Beeinflussung anderer Stoffwechselwege schädigend wirkt. Ein adäquates Tiermodell, in dem der Einfluß dieser sekundären Faktoren völlig aufgeklärt wird, ist uns nicht bekannt. In Hinsicht auf eine mögliche Substitutionstherapie während der Schwangerschaft wäre eine solche weitergehende Untersuchung in Zukunft von Bedeutung.

7. ZUSAMMENFASSUNG

135 weibliche Wistarratten dienten als Versuchstiere, um im tierexperimentellen Modell Ursachen für die verzögerte Entwicklung des Kleinhirns beim fetalen Alkoholsyndrom zu finden.

78 dieser Tiere erhielten flüssige Nahrung mit einem 10 %igen Alkoholgehalt, 37 Tiere die reine flüssige Nahrung, 20 Tiere normales Trockenfutter während der Schwangerschaft.

Die Jungtiere wurden nach der Geburt zum Teil nach dem Ammensystem getauscht, der andere Teil blieb bei seiner Mutter. Wir gaben einer Gruppe Alkohol postnatal, einer anderen die Flüssignahrung weiter und den restlichen Tieren Trockenfutter.

Morphologisch wurden die Kleinhirne der Tiere untersucht, die Alkohol postnatal weiter bekamen. Zusätzlich untersuchten wir zwei Kontrollgruppen. Dabei fanden wir bei den Versuchstieren geringere Hirngewichte sowohl bei Geburt als auch bis zum 21. Lebenstag und eine verzögerte Histogenese des Kleinhirnwurms. Dies zeigte sich sowohl in Paraffinschnitten wie auch in Gefrierschnitten, in denen wir zusätzlich die enzymatische Ausreifung der Zellen der Kleinhirnrinde beobachtet haben. Die Versuchstiere haben in der Phase des Wachstumsspurts nach diesen Untersuchungen weniger Energie für ihre Hirnentwicklung zur Verfügung als die Kontrolltiere, was die Verzögerung der Histogenese erklären könnte. Besonders spät entwickelten sich die Dendritenbäume der Purkinjezellen.

Wir meinen, daß die verzögerte Histogenese und der geringere Energieumsatz eine mögliche Erklärung für die mentale Retardierung, die bei Kindern mit fetalem Alkoholsyndrom zu finden ist, sein dürfte, können jedoch nicht mit Sicherheit ausschließen, daß sekundäre, nutritive oder endokrinologische Faktoren die Entwicklung unserer Tiere beeinflußt haben. Wir halten die beschriebene Differenzierungsstörung nicht für ein rein alkoholspezifisches, sondern eher für ein polyäthiologisches Phänomen.

8. LITERATUR

- Abel, E.L. (1980): Fetal alcohol syndrome: Behavioral Teratology Psychological Bulletin, Vol. 87, No. 1, S. 29-50
- Adams CWM (ed.): Neurohistochemistry, London, New York, 1965
- Addison WHF (1911): The development of the Purkinje cells and of the cortical layers in the cerebellum of the albino rat. J. Comp. Neurol. 21, S. 459-487
- Altman, J. (1969): Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis. III. Dating the time of production and onset of differentiation of cerebellar micro-neurons in rats. J. Comp. Neurol. 136, S. 269-294
- Altman, J. (1972a): Postnatal development of the cerebellar cortex in the rat. I. The external germinal layer and the transitional molecular layer. J. comp. Neurol. 145, S. 353-398
- Altman, J. (1972b): Postnatal development of the cerebellar cortex in the rat. II. Phases in the maturation of Purkinje cells and the molecular layer. J. Comp. Neurol. 145, S. 399-464
- Altman, J. (1972c): Postnatal development of the cerebellar cortex in the rat. III. Maturation of the components of the granular layer. J. Comp. Neurol. 145, S. 465-514
- Altman, J., Das GD; Sudarshan K.; Anderson, J.B. (1971): The influence of nutrition on neural and behavioral development. II. Growth of body and brain in infant rats using different techniques of undernutrition. Dev. Psychobiol. 4, S. 55-70
- Angulo-Colmenares, Ana G.; Vaughan, D.W.; Hinds, J.W. (1979): Rehabilitation following early malnutrition in the rat: Body weight, brain size, and cerebral cortex development. Brain research, 169, S. 121-138
- Arakawa, T. (1970): Congenital defects in folate utilization. American Journal of Medicine, 48, S. 594-598
- Bauer-Moffett, C.; Altman, J. (1977): The effect of ethanol chronically administered to preweanling rats on cerebellar development: a morphological study. Brain Res. 119, S. 249-268
- Borges, S.; Lewis, P.D. (1982): A study of alcohol effects on the brain during gestation and lactation. Teratology 25, S. 283-289

- Borges, S.; Lewis, P.D. (1983): The effect of ethanol on the cellular composition of the cerebellum. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 9, S. 53-60
- Brown, N.D.; Goulding, E.H.; Fabro, S. (1979): Ethanol embryotoxicity: Direct effect on mammalian embryos in vitro. *Science* 206, S. 573-575
- Burke, J.P.; Rubin, E. (1979): The effects of ethanol and acetaldehyde on products of protein synthesis by liver mitochondria. *Lab. Invest.* 41, S. 393-400
- Chernoff, G.F. (1975): A mouse model of the fetal alcohol syndrome. *Teratology* 11, S. 14 A
- Chernoff, G.F. (1977): The fetal alcohol syndrome in mice: An animal model. *Teratology* 15, S. 223-230
- Clarren, S.K.; Smith, D.W. (1978): The fetal alcohol syndrome. *New Engl. J. Med.* 298, S. 1063-1067
- Clarren, S.K.; Alvord, E.C. jr.; Sumi, S.M. (1978): Brain malformations related to prenatal exposure to ethanol. *J. Pediatr.* 92, S. 64-67
- Culley, W.J.; Lineberger, R.O. (1968): Effect of undernutrition on the size and composition of the rat brain. *J. Nutr.* 96, S. 375-381
- Dobbing, J.: Vulnerable periods in developing brain. In: Davison, A.N.; Dobbing, J. (eds.): *Applied Neurochemistry* S. 287-316. Blackwell Oxford, 1968
- Dobbing, J. (1976): Malnutrition et développement du cerveau. *La Recherche* 64, S. 139-145
- Dobbing, J.; Sand, J. (1971): Vulnerability of developing brain. *Biol. Neonate* 19, S. 363-378
- Erickson, C.K.: Regional distribution of ethanol in the brain. *Life Sci.* 19, S. 1439-1446 (1976)
- Friede, R. (1957): Die histochemische Reifung des Kleinhirns der Ratte dargestellt durch das Verhalten der Succinoxidase. *Arch. Psychiat. Nervenkr.* 196, 196-204
- Giuffrida, A.M.; Hamberger, S.; Serra, I.; Geremia, E. (1980): Effects of undernutrition on nucleic acid synthesis in neuronal and glial cells from different regions of developing rat brain. *Nutr. Metab.* 24, S. 189-198
- Gopinath, G.; Bijlani, V.; Deo, M.G. (1976): Undernutrition and the developing cerebellar cortex in the rat. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 35, S. 125-135

- Gottlieb, A.; Keylar, I.; Epstein, H.T. (1977): Rodent brain growth stages: An analytical review. *Biol. Neonate* 32, S. 166-176
- Green, H.G., M.D., M.P.H. (1974): Infants of alcoholic mothers. *Am. J. Obstet. Gynecol.* Vol. 118, No. 5, S.713-716
- Hanson, J.W.; Streissguth, A.; Smith, D.W. (1978): The effects of moderate alcohol consumption during pregnancy on fetal growth and morphogenesis. *J. Pediatr.* 92, S. 457-460
- Hurley, L.S.; Cosens, G. & Theriault, L.L. (1976): Magnesium, calcium and zinc level of maternal and fetal tissues in magnesium deficient rats. *Journal of Nutrition*, 106, S. 1261-1264
- Jones, K.L.; Smith, S.W. (1973): Cognition of the fetal alcohol syndrome in early infancy. *Lancet* II, S. 999-1001
- Jones, K.L.; Smith, D.W.; Ulleland, C.N.; Streissguth, A.P. (1973): Pattern of malformation in offspring of chronic alcoholic mothers. *Lancet* I, S. 1267-1271
- Jones, K.L., M.D.; Chernoff, G.F., PH.D. (1978): Drugs and chemicals associated with intrauterine growth deficiency. *Report Med.* 21, S. 365-370
- Karlson, P. (1977): *Kurzes Lehrbuch der Biochemie*, Thieme Verlag, Stuttgart
- Kesäniemi, Y.A.; Sippel, H.W. (1975): Placental and foetal metabolism of acetaldehyde in rat. I. Contents of ethanol and acetaldehyde in placenta and foetus of the pregnant rat during ethanol oxidation. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 37, S. 43-48
- Kornguth, S.E.; Rutledge, J.J.; Sunderland, E.; Siegel, F.; Carlson, I.; Smollens, J.; Juhl, U.; Young, B. (1979): Impeded cerebellar development and reduced serum thyroxine levels associated with fetal alcohol intoxication. *Brain Res.* 177, S. 347-360
- Kronick, J.B. (1976): Teratogenic effects of ethyl alcohol administered to pregnant mice. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 124, S. 676-680
- Legrand, J. (1967): Analyse de l'action morphogénétique des hormones thyroïdiennes sur le cervelet du jeune rat. *Arch. Anat. Microsc. Morphol. Exp.* 56, S. 205-244
- Lemoine, P.; Harousseau, H.; Borteyru, J.P.; Menuet, J.-C. (1968a): Les enfants de parents alcooliques: anomalies observées, à propos de 127 cas. *Arch. Fr. Pediatr.* 25, S. 830-831

- Lemoine, P.; Harousseau, H.; Borteyru, J.P.; Menuet, J.-C. (1968b): Les enfants des parents alcooliques: anomalies observées, à propos de 127 cas. *Quest. Med.* 25, S.476-482
- Lewis, P.D.; Balázs, R.; Patel, A.J.; Johnson, A.L. (1975): The effect of undernutrition in early life on cell generation in the rat brain. *Brain Res.* 83, S. 235-247
- Little, R.: Moderate alcohol use during pregnancy and decreased infant birth weight. *Am. J. Public health* 67 (1977), S. 1154
- Majewski, F. (1978a): Untersuchungen zur Alkohol-Embryopathie. *Fortschr. Med.* 96, S. 2207-2213
- Majewski, F. (1978b): Über schädigende Einflüsse des Alkohols auf die Nachkommen. *Nervenarzt* 49, S. 410-416
- Majewski, F. (1979): Die Alkoholembryopathie: Fakten und Hypothesen. In: *Ergebnisse der Inneren Medizin und Kinderheilkunde*, Bd. 43, S. 1-58
- Majewski, F.; Bierich, J.R.; Löser, H.; Michaelis, R.; Leiber, B.; Bettecken, F. (1976): Zur Klinik und Pathogenese der Alkohol-Embryopathie. *MMW* 118, S. 1635-1642
- Majewski, F.; Bierich, J.R. und Michaelis, R. (1977): Alkoholembryopathie. *Deutsches Ärzteblatt* 74, S. 1133-1136
- Mann, L.I.; Bhakthavathsalan, A.; Liv, M.; Makowski, P. (1975): Placental transport of alcohol and its effect on maternal and fetal acid-base balance. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 122, S. 837-844
- McConnell, P.; Berry, M. (1978): The effect of refeeding after neonatal starvation on Purkinje cell dendritic growth in the rat. *J. Comp. Neurol.* 178, S. 759-772
- Meberg, A.; Sande, H.; Foss, O.P.; Stenwig, J.T.: Smoking during pregnancy - effects on the fetus and on the thiocyanate levels in mother and baby. *Acta. Paediatr. Scand.* 68 (1979), S. 547
- Meyer, M.B.; Jonas, B.S.; Tonascia, J.A.: Perinatal events associated with maternal smoking during pregnancy. *Am. J. Epidemiol.* 103 (1976) S. 464
- Mulvihill, J.J.; Yeager, A.M. (1976): Fetal alcohol syndrome. *Teratology* 13, S. 345-348
- Nestler, V.M.; Spohr, H.L.; Steinhausen, H.C. (1981): 'Die Alkoholembryopathie, Enke, Stuttgart, Heft 83
- Neville, H.E.; Chase, H.P. (1971): Undernutrition and cerebellar development. *Exp. Neurol.* 33, S. 485-497

- Olegard, R.; Sabel, K.-G.; Aronsson, M.; Sandin, B.; Johansson, P.R.; Carlsson, C.; Kyllerman, M.; Iversen, K.; Hrbek, A. (1979): Effects on the child of alcohol abuse during pregnancy. *Acta Paediatr. Scand. (Supp.)* 275, S. 112-121
- Olson, R.E. (1973): Nutrition and alcoholism. In: Goodhart, R.S. & Shils, M.E. (Eds.): *Modern nutrition in health and disease*. Philadelphia, Pa.: Lea and Febiger, 1973
- O'Shea, K.S.; Kaufman, M.H. (1979): The teratogenic effect of acetaldehyde: implications for the study of the fetal alcohol syndrome. *J. Anat.* 128, S. 65-76
- Papara-Nicholson, D.; Telford, J.R. (1957): Effects of alcohol on reproductive and fetal development in the guinea pig. *Anat. Rec.* 177, S. 438-439
- Patel, A.J.; Balázs, R.; Johnson, A.L. (1973): Effect of undernutrition on cell formation in the rat brain. *J. Neurochem.* 20, S. 1151-1165
- Persson, L.; Sima, A. (1975): The effect of pre- and post-natal undernutrition on the development of the cerebellar cortex of the rat II. Histochemical observations, *Neurobiology* 5, S. 151-166
- Pfeiffer, J.; Majewski, F.; Fischbach, H.; Bierich, J.R.; Volk, B. (1979): Alcohol embryopathy. Neuropathology of 3 children and 3 fetuses. *J. Neurol. Sci.* 41, S. 125
- Pförringer, G. (1972): Vortrag anlässlich der Verhandlungen psychiatrischer Vereine, 1. Sitzung, Donnerstag, 30. Mai vormittags. *Allg. Psychiat.* 69, S. 734
- Phillips, S.C.; Cragg, B.G. (1982a): A change in susceptibility of rat cerebellar Purkinje cells to damage by alcohol during fetal, neonatal and adult life. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 8, S. 441-454
- Phillips, S.C.; Cragg, B.C. (1982b): A change in susceptibility of rat cerebellar Purkinje cells to damage by acetaldehyde during fetal, neonatal and adult life. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 8, S. 455-463
- Pikkarainen, P.H.; Riih , N.C.R. (1968): Development of alcohol dehydrogenase activity in the human liver. *Pediatr. Res.* 1, S. 165-172
- Pilstr m, L.; Kiessling, K.H. (1967): Effect of ethanol on the growth and on the liver and brain mitochondria functions of the offspring of rats. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 25, S. 225-232
- Randall, C.L.; Taylor, W.J.B., Walker, W. (1977): Ethanol induced malformations in mice. *Alcoholism. Clin. Exp. Res.* 1, S. 219-224

- Randall, C.L.; Riley, E.P. (1981): Prenatal alcohol exposure: Current issues and the status of animal research. *Neuro-behav. Toxicol. Teratol.* 3, S. 111-115
- Raskin, N.H. and Sokoloff, L.: Enzymes catalizing ethanol metabolism in neurol. and somatic tissues of the rat. *J. Neurochem.* 19, S. 273-282 (1972)
- Rawat, A.K. (1975): Ribosomal protein synthesis in the fetal and neonatal rat brain as influenced by maternal ethanol consumption. *Res. Commun. Chem. Pathol. pharmacol.* 12, S. 723-732
- Rush, D.; Kass, E.H.: Maternal smoking: A reassessment of the association with perinatal mortality. *Am. J. Epidemiol.* 96 (1972), S. 183
- Ryle, P.R.; Thomas, A.D. (1983): Acetaldehyde and the fetal alcohol syndrome. *Lancet* 11, S. 219-220
- Samaille-Villette, C.; Samaille, P.P.: Le syndrome d'alcoolisme foetal. A propos de 47 observations. Thèse de Médecine, Lille 1976
- Sandor, S.; Amels, D. (1971): The action of aethanol on the prenatal development of albino rats. *Rev. Roum Morphol. Embryol. Série d'embryologie* 7, S. 105-118
- Sandor, S.; Elias, S. (1968): The influence of aethyl-alcohol on the development of the chick embryo. *Rev. Roum. Morphol. Embryol. Série d'embryologie* 5, S. 51-76
- Shaywitz, B.A.; Grieffieth, G.G.; Warshaw, J.B. (1979): Hyperactivity and cognitive deficits in developing rat pups born to alcoholic mothers: An experimental model of the expanded fetal alcohol syndrome (EFAS). *Neuro-behav. Toxicol.* 1, S. 113-122
- Shinonaga, Y (1965): Histochemical and cytochemical studies on the succinic dehydrogenase in the developing cerebellum. *Arch. Histol. Jpn.* 25, S. 467-490
- Sima, A.; Persson, L. (1975): The effect of pre- and post-natal undernutrition on the development of the cerebellar cortex of the rat. I. Morphological observations, *Neurobiology* 5, S. 23-34
- Sippel, H.W.; Kesäniemi, Y.A. (1975): Placental and fetal metabolism of acetaldehyde in rat. II. Studies on metabolism of acetaldehyde in the isolated placenta and fetus. *Acta. Pharmacol. Toxicol.* 37, S. 49-55
- Sotelo, C.; Wegmann, R. (1962): Aspects enzymohistochimiques des glomérules cérébelleux: corrélation entre leur structure, leur fonction et la production d'énergie. *Ann. Histochem.* 47, S. 105-110

- Spohr, H.L. und Stoltenburg-Didinger, G. (1983): Zum Problem der "abortiven" Alkoholembryopathie. Monatsschr. Kinderheilkunde 131, S. 96-99
- Stockard, C.R. (1918): Further studies on the modifications of the germ cells in mammals: The effect of alcohol on treated guinea pigs and their descendants. Exp. Zool. 26, S. 119-226
- Tze, W.J., Lee, M. (1975): Adverse effects of maternal alcohol consumption on pregnancy and foetal growth in rats. Nature 257, S. 479-480
- Véghelyi, P.V. (1983): Fetal abnormality and maternal ethanol metabolism. Lancet II, S. 53-54
- Véghelyi, P.V.; Osztovics, M. (1978): The alcohol syndrome: The intrarecombigenic effect of acetaldehyde. Experientia 34, S. 195-196
- Volk, B. (1977): Verzögerte Kleinhirnentwicklung im Rahmen des "embryofetalen Alkoholsyndroms". Acta Neuropathol. 39, S. 157-163
- Volk, B.; Maletz, J.; Tiedemann, M.; Mall, G.; Klein, C.; Berlet, H.H. (1981): Impaired maturation of Purkinje cells in the fetal alcohol syndrome of the rat. Acta Neuropathol. 54, S. 19-29
- Volk, B. (1984): Cerebellar histogenesis and synaptic maturation following pre- and postnatal alcohol administration. Acta Neuropathol. (Berl) 63, S. 57-65
- Volk, B. (1984): Neurohistological and neurobiological aspects of fetal alcohol syndroms in the rat. Neurobehavioral Teratology, S. 163- 193
- Waltman, R.; Iniquez, E.S. (1972): Placental transfer of ethanol and its elimination at term. Obstet. Gynecol. 40, S. 180-185
- Winick, M. (1969): Malnutrition and brain development. Pediatrics 74, S. 667-679
- Wisniewski, K.; Damska, M.; Sher, J.H.; Qazi, Q. (1983): A clinical neuropathological study of the fetal alcohol syndrome. Neuropediatrics 14, S. 197-201
- Wittstruck, T.A.; Woodward, B.E.; Forbes, W.B.; Caspi, E. (1979): Influence of prenatal and continuous postnatal protein-deficient diets on the development of rats. Biol. Neonate 35, S. 1-7

- Woodward, D.J.; Hoffer, B.J.; Lapham, L.W. (1969): Postnatal development of electrical and enzyme histochemical activity in Purkinje cells. *Exp. Neurol.* 23, S. 120-139
- Wright, J.T.; Barrison, I.G.; Lewis, I.G.; Macrae, K.D.; Waterson, E.J.; Toplis, P.J.; Gordon, M.G.; Morris, N.F.; Murray-Lyon, I.M. (1983): Alcohol consumption, pregnancy, and low birthweight. *The Lancet* 26, S. 663-665

9. DANK

Wir konnten den in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Versuch nur durchführen dank der Mitarbeiter zweier Institute der FU Berlin:

- dem Institut für Neuropathologie am Fachbereich 02 und
- dem Institut für Embryonalpharmakologie am Fachbereich 03.

Wir bedanken uns bei Herrn Dr. Chahoud aus dem Institut für Embryonalpharmakologie für seine Unterstützung und Hilfeleistung sowie bei den Tierpflegern und -innen dieses Instituts, die uns bei der praktischen Durchführung des Versuches eine große Hilfe waren.

Den medizinisch-technischen Assistentinnen des neuropathologischen Instituts danken wir für ihre zum Teil sehr mühevollen Hilfe beim Anfertigen der Präparate und der Fotoabteilung des Klinikums Steglitz für Beratung und Hilfe.

Mein persönlicher Dank gilt Herrn Dr. Spohr aus dem Rittberg-Krankenhaus in Berlin und - was meine Arbeit betrifft - insbesondere Frau Dr. Stoltenburg-Didinger aus dem Institut für Neuropathologie, die uns während der gesamten Arbeit hervorragend betreuten.

10. LEBENS LAUF

Madeleine-Simone Kastner

26.10.1957: geboren in Berlin als Tochter von Karin Kastner, techn. Zeichnerin und Günter Kastner, Architekt

1964-1976: Schulausbildung an der Volksschule Ehestorfer Weg und dem Friedrich-Ebert-Gymnasium in Harburg

31.05.1976: Abitur

1976: Beginn des Humanmedizinischen Studiums an der FU Berlin

16.12.1983: Dritte ärztliche Prüfung an der FU Berlin

30.01.1984: Erteilung der Approbation

